XXIII CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Dejemos huella

2018

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y PÓSTER



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: www.trisquel.com
Imprime: Imprenta Ecoprint
Depósito Legal: AS-1944-2018
© ANEMBE 2018

11 CURRÍCULOS
21 PONENCIAS

22 **IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN FUTURA DE LA NUTRICIÓN, GESTIÓN Y EL CRECIMIENTO EN LA VIDA TEMPRANA**
Prof. Dr. Jud Heinrichs
ENGLISH VERSION:THE IMPACT OF EARLY LIFE NUTRITION, MANAGEMENT, AND GROWTH ON FUTURE PRODUCTION

27 **MEJORAR LA PRECISIÓN NUTRICIONAL Y ECONOMÍA MEDIANTE LA ESTRATEGIA DE AGRUPACIÓN DE RACIONES MÚLTIPLES**
Prof. Dr. Víctor Cabrera
ENGLISH VERSION: IMPROVING NUTRITIONAL ACCURACY AND ECONOMICS THROUGH MULTIPLE RATION-GROUPING STRATEGY

35 **APLICACIÓN PRÁCTICA DE LA TEORÍA DE OXIDACIÓN HEPÁTICA**
Dr. Michael Allen
ENGLISH VERSION: PRACTICAL APPLICATION OF HEPATIC OXIDATION THEORY

47 **MEJORAR LA EFICIENCIA DE LA ALIMENTACIÓN EN NOVILLAS LECHERAS**
Prof. Dr. Jud Heinrichs
ENGLISH VERSION: IMPROVING FEED EFFICIENCY IN DAIRY HEIFERS

50 **¿CÓMO PUEDE LA ALIMENTACIÓN LÍQUIDA BASADO EN AZUCAR OPTIMIZAR LAS RACIONES DE VACAS LECHERAS?**
Dr. Andrea Formigoni
ENGLISH VERSION: HOW CAN SUGAR BASED LIQUID FEEDS OPTIMIZE THE DAIRY COWS RATIONS?

63 **DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE EL EXAMEN FÍSICO, DATOS DE LABORATORIO, Y TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO COMPLEMENTARIAS EN BOVINOS CON ABDOMEN DISTENDIDO**
Dr. Allen Roussel
ENGLISH VERSION: CLINICAL DIAGNOSIS USING PHYSICAL EXAMINATION, LABORATORY DATA, AND COMPLEMENTARY DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN CATTLE WITH DISTENDED ABDOMEN

70 **¿CUÁLES SON LAS CONSECUENCIAS DE LAS LESIONES DE PEZUÑA EN LA VIDA DE UNA VACA?**
Dr. Reuben Newsome
ENGLISH VERSION: WHAT ARE THE CONSEQUENCES OF HOOF INJURIES IN THE LIFE OF A COW?

76 **TERAPIA CON FLUIDOS PARA VACAS ADULTAS**
Dr. Ric R. Grummer
ENGLISH VERSION: FLUID THERAPY FOR MATURE CATTLE

79 **¿CUÁLES DEBERÍAN SER SUS APTITUDES VETERINARIAS PARA IDENTIFICAR Y TRATAR LA COJERA?**
Dr. Reuben Newsome
ENGLISH VERSION: WHAT SHOULD YOUR VETERINARY APTITUDES BE TO IDENTIFY AND TREAT LAMENESS?

83 **PROTEÍNA EN SUERO, PRUEBAS HEPÁTICAS Y PRUEBAS DE LA FUNCIÓN RENAL EN BOVINOS**
Dr. Allen Roussel
ENGLISH VERSION: SERUM PROTEINS, HEPATIC TESTS AND RENAL FUNCTION TESTS IN CATTLE

89 **PONER EN PRIMER LUGAR AL CONSUMIDOR: CLASIFICACIÓN DE CALIDAD DE CONSUMO DE CARNE DE VACUNO**
Dr. Rod Polkinghorne
ENGLISH VERSION: PUTTING THE CONSUMER FIRST – BEEF EATING QUALITY GRADING

98 **¿SON POSIBLES LAS ALTAS TASAS DE FECUNDIDAD EN REBAÑOS DE ALTA- PRODUCCIÓN?**
Prof. Dr. P. Fricke
ENGLISH VERSION: IS HIGH FERTILITY POSSIBLE IN HIGH-PRODUCTION HERDS?

113 **DIAGNÓSTICO DE LA GESTACIÓN: PASADO, PRESENTE Y FUTURO**
Dr. Ky G. Pohler.
ENGLISH VERSION: PREGNANCY DIAGNOSIS: PAST, PRESENT AND FUTURE

124 **CONSIDERACIONES Y LIMITACIONES DE LOS MEDIDORES DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA**
Prof. Dr. P. Fricke
ENGLISH VERSION: CONSIDERATIONS AND LIMITATIONS OF REPRODUCTIVE ACTIVITY METERS

134 **¿CUÁLES SON TUS ESTRATEGIAS PREFERIDAS PARA CONTROLAR LA DERMATITIS DIGITAL?**
Dr. Reuben Newsome
ENGLISH VERSION: WHAT ARE YOUR PREFERRED STRATEGIES TO CONTROL DIGITAL DERMATITIS?





136 **GESTIÓN DE PARTOS GEMELARES EN VACAS LECHERAS**
Prof. Dr. P. Fricke
ENGLISH VERSION: MANAGEMENT OF TWINNING IN DAIRY COWS

152 **CASOS CLÍNICOS POCO COMUNES EN REBAÑOS LECHEROS**
Dr. George Stilwell
ENGLISH VERSION: LESS COMMON CLINICAL CASES IN CATTLE HERDS

153 **LA INSULINA, LA INFLAMACIÓN Y LA LACTANCIA**
Dr. Rodrigo Bicalho
ENGLISH VERSION: INSULIN, INFLAMMATION, AND LACTATION

157 **LA DIFÍCIL DISTOCIA Y COMPLICACIONES RESULTANTES**
Dr. Richard Hopper
ENGLISH VERSION: THE DIFFICULT DYSTOCIA AND RESULTANT COMPLICATIONS

161 **LECHE DESNATADA O ENTERA—¿CUAL ES MÁS SALUDABLE?. REEVALUACIÓN DE LAS RECOMENDACIONES**
Dr. Francisco Javier Fontecha

162 **ACTUALIZACIÓN SOBRE LA RELEVANCIA DEL STAPHYLOCOCCUS DE TIPO NO-AUREUS PARA LA SALUD DE LA UBRE BOVINA**
Dr. Sarne De Vliegher
ENGLISH VERSION: UPDATE ON THE RELEVANCE OF NON-AUREUS STAPHYLOCOCCI FOR BOVINE UDDER HEALTH

165 **EL MICROBIOMA BOVINO Y SU RELACIÓN CON LA SALUD**
Dr. Rodrigo Bicalho
ENGLISH VERSION: THE BOVINE MICROBIOME AND HEALTH ASSOCIATIONS

173 **MANTENIMIENTO DE LA SALA DE ORDEÑO: ¿SE DEBEN SEGUIR SIEMPRE LAS RECOMENDACIONES DEL FABRICANTE? ¿CON QUÉ FRECUENCIA DEBE REALIZARSE UN ENSAYO DINÁMICO? ¿DEBE COMBINARSE CON UNA AUDITORIA DEL TIEMPO DE ORDEÑO?**
Dr. Andrew Biggs
ENGLISH VERSION: MAINTENANCE OF THE MILKING PARLOUR: SHOULD THE MANUFACTURER'S RECOMMENDATIONS ALWAYS BE FOLLOWED? HOW OFTEN SHOULD A DYNAMIC TEST BE PERFORMED? SHOULD IT BE COMBINED WITH A MILKING TIME AUDIT?

179 **TERAPIA DE MASTITIS BASADA EN PATÓGENOS**
Dr. Rodrigo Bicalho
ENGLISH VERSION: PATHOGEN BASED MASTITIS THERAPY

182 **STREPTOCOCCUS UBERIS: CONTAGIOSO, AMBIENTAL, AMBOS? CÓMO GESTIONARLO?**
Dr. Andrew Biggs
ENGLISH VERSION: STREPTOCOCCUS UBERIS: CONTAGIOUS, ENVIRONMENTAL, BOTH? HOW TO MANAGE?

189 **GESTIÓN DE LA GRANJA Y PROCESAMIENTO PARA OPTIMIZAR LA CALIDAD DE LA CARNE DE TERNERA PARA EL CONSUMO**
Dr. Rod Polkinghorne
ENGLISH VERSION: FARM AND PROCESSING MANAGEMENT TO OPTIMISE BEEF EATING QUALITY

195 **UN CEREBRO VIRTUAL DE GRANJA LECHERA**
Prof. Dr. Víctor Cabrera
ENGLISH VERSION: A VIRTUAL DAIRY FARM BRAIN

204 **UTILIZAR LA CLASIFICACIÓN DE CALIDAD DE CARNE DE VACUNO PARA MAXIMIZAR EL DISFRUTE DEL CONSUMO Y LOS INGRESOS DE LA INDUSTRIA**
Dr. Rod Polkinghorne
ENGLISH VERSION: USING BEEF EATING QUALITY GRADING TO MAXIMISE CONSUMER ENJOYMENT AND INDUSTRY REVENUE

208 **¿QUÉ NECESITO PARA MOTIVARME?**
Dr. José Hilario Martín

209 **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL, FERMENTATIVA Y MICROBIOLOGICA DE FORRAJES Y SUBPRODUCTOS: EVALUACION DE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL Y DESARROLLO DE UN INDICE DE CALIDAD FERMENTATIVA.**
Dr. Antonio Gallo
ENGLISH VERSION: EVALUATION OF NUTRITIVE, FERMENTATIVE AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FORAGES AND BY-PRODUCTS: EVALUATION OF RUMEN DEGRADABILITY AND DEVELOPMENT OF A FERMENTATIVE QUALITY INDEX.

221 **LA DISPONIBILIDAD DE ALMIDÓN, SU MEDICIÓN E IMPLICACIONES PARA LA FORMULACIÓN DE RACIONES**
Dr. Michael Allen
ENGLISH VERSION: STARCH AVAILABILITY, MEASUREMENT AND IMPLICATIONS FOR RATION FORMULATION

234 **EXPLORANDO EL POTENCIAL DE HERRAMIENTAS DE LECHERÍA DE PRECISIÓN**
Dr. Jeffrey Bewley
ENGLISH VERSION: EXPLORING THE POTENTIAL OF PRECISION DAIRY TOOLS

252 **¿QUE AFECTA EL PH RUMINAL?**
Dr. Michael Allen
ENGLISH VERSION: WHAT AFFECTS RUMINAL PH?

262 **¿POR QUÉ ES IMPORTANTE LA MADUREZ DE LAS NOVILLAS? ANÁLISIS PRÁCTICO DE LOS DATOS DE GRANJA**
Dr. Gavin Staley
ENGLISH VERSION: WHY BUILDING A MATURE HEIFER MATTERS

264 **CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO Y CONSIDERACIONES DE GESTIÓN DE ESTABLOS CON ENCAMADO DE COMPOST**
Dr. Jeffrey Bewley
ENGLISH VERSION: COMPOST BEDDED PACK BARN DESIGN FEATURES AND MANAGEMENT CONSIDERATIONS

276 **PREDICCIÓN DE LA MASTITIS MEDIANTE UN ALMACÉN DE DATOS EN TIEMPO REAL**
Prof. Dr. Víctor Cabrera
ENGLISH VERSION: PREDICTING MASTITIS USING A REAL-TIME DATA WAREHOUSE

284 **SIGUE SIENDO TODAVÍA EL SCC EL INDICADOR PRINCIPAL DE LA SALUD DE LA UBRE?**
Dr. Andrew Biggs
ENGLISH VERSION: IS INDIVIDUAL SCC STILL THE MAIN INDICATOR OF UDDER HEALTH?

291 **GESTIÓN DE LA UROLITIASIS OBSTRUCTIVA EN EL TORO DE CRÍA**
Dr. Richard Hopper
ENGLISH VERSION: MANAGEMENT OF OBSTRUCTIVE UROLITHIASIS IN THE BREEDING BULL

294 **LOS MÉTODOS NO TRADICIONALES PARA DETERMINAR LA FERTILIDAD DEL TORO**
Dr. Ky G. Pohler.
ENGLISH VERSION: NON-TRADITIONAL METHODS TO DETERMINE SIRE FERTILITY

304 **¿CÓMO MANEJAR LAS PÉRDIDAS DE GESTACIÓN EN REBAÑOS DE CARNE?**
Dr. Ky G. Pohler.
ENGLISH VERSION: MANAGING PREGNANCY LOSS IN A BEEF HERD

314 **NECROPSIA EN CAMPO: INTERPRETACIÓN DE LESIONES**
Dr. Valentín Pérez

315 **CONTROL DE DOLOR DURANTE Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS PODALES GRAVES**
Dr. George Stilwell
ENGLISH VERSION: WAYS OF REDUCING PAIN DURING AND AFTER TREATING HOOF LESIONS IN DAIRY COWS

317 **ORINA (UROVAGINA POOLERS CRÓNICA)**
Dr. Richard Hopper
ENGLISH VERSION: CHRONIC URINE POOLERS (UROVAGINA)

320 **CLAVES PARA EL DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO DE PATOLOGÍAS BOVINAS HABITUALES**
Dr. Valentín Pérez

321 **CALOSTRO - RECORDAR LO CLÁSICO Y VER QUÉ HAY DE NUEVO**
Dr. George Stilwell
ENGLISH VERSION: COLOSTRUM – RECALL THE OLD AND UNDERSTAND WHAT'S NEW.





323 **COMUNICACIONES ORALES**

GESTIÓN Y EXTENSIVO

324 **EVALUACIÓN DE LA RENTABILIDAD DE UNA EMPRESA BOVINA LECHERA LOCALIZADA EN LOS VALLES CENTRALES DE OAXACA, MÉXICO**
Durán E, Gaytán L , Gijón S

324 **REPOSICIÓN VOLUNTARIA: DE DATOS A DECISIONES**
López-Suárez M, Castillejos L, Armengol E, Calsamiglia, S

325 **EVALUACIÓN DEL COSTE DE LA RECRÍA EN LAS GRANJAS LECHERAS ESPAÑOLAS**
Grupo de recría de MSD Animal Helth Spain

326 **EVALUACIÓN DEL BIENESTAR ANIMAL EN GANADO BOVINO EN SISTEMA EXTENSIVO**
Rodríguez JM, Lomillos JM, Bartolomé C, Alonso ME

MEDICINA

327 **MANEJO CLÍNICO DE LESIONES DE TRONCO ENCEFÁLICO POR TRAUMATISMO EN UNA TERNERA**
Herrero V, Villaescusa A, Re M, Manso-Díaz G, Criado F

328 **DESCRIPCIÓN DE LA RECRÍA, MORBILIDAD, MORTALIDAD Y FERTILIDAD, EN GANADERÍAS LECHERAS DE LA PROVINCIA DEL AZUAY, ECUADOR**
Rodas R , Vázquez J, Nieto P, Pesántez MCalle G, Dutan J, Murillo Y, González JV, Ayala L

328 **PREDICCIÓN DE ENFERMEDADES PERIPARTO MEDIANTE EL COMPORTAMIENTO DE LAS VACAS EN EL PREPARTO**
Belaid MA, Rodríguez-Prado M, Calsamiglia

NUTRICIÓN

329 **ESTATUS MINERAL (DIETA Y SUERO) DEL VACUNO DE LECHE EN ESPAÑA: ECOLÓGICO VS CONVENCIONAL**
Miranda M, Orjales I, Rodríguez-Bermúdez R, Pereira V, Rigueira L, López-Alonso M

330 **EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN CON LACTOREEMPLAZANTES CON DISTINTAS FUENTES DE PROTEÍNA SOBRE EL CRECIMIENTO DE TERNEROS, CONSUMO DE PIENSO Y COSTES DE LA ALIMENTACIÓN**
Maynou G, Tapiolas M, Heras J

VARIOS

331 **¿HEMOS PERDIDO NUESTRA CAPACIDAD DE ANALIZAR Y DECIDIR? I**
García F

332 **¿HEMOS PERDIDO NUESTRA CAPACIDAD DE ANALIZAR Y DECIDIR? II**
García F

SANIDAD

333 **PREVALENCIA DE NOROVIRUS Y TOROVIRUS BOVINO EN TERNEROS CON DIARREA Y COMPARACIÓN ENTRE DIFERENTES QPCRS COMERCIALES PARA DIAGNÓSTICO: RESULTADOS PRELIMINARES**
Prieto A, Díaz-Cao JM, Díaz P, Benito A, Arnal, JL, Baselga R, López-Lorenzo G, Remesar S, Pérez-Creo A , López C , Panadero R, Iglesias A, Quintela, LA, Morrondo P, Díez-Baños P, Fernández G

334 **VETERINARIOS Y GRANJEROS: INVESTIGANDO OPINIONES Y EXPERIENCIAS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN GRANJAS DE LECHE**
Moya S, Allepuz A, Benavides B, Tirado F, Espluga J, Casal J, Yus E, Diéguez J

334 **IMPLICACIÓN DE ENTEROPATÓGENOS PARASITARIOS EN LA DIARREA NEONATAL DEL TERNERO**
Díaz P, Prieto A, Conde M, Pérez A, Remesar S, López G, Díaz-Cao JM, Fernández G, Gómez H, Panadero R, López CM, Quintela LA, Diez-Baños P, Ares E, Morrondo P

335 **QUERATOCONJUNTIVIS INFECCIOSA BOVINA: ¿DESCUIDAMOS OTROS PATÓGENOS?**
Arnal JL, Benito A, Chacón G, Fernández A, Serrano JD, Barros J, Sanz C, Alzuguren O

336 **CARACTERIZACIÓN DEL ESTATUS SANITARIO FRENTE A DIARREA VÍRICA BOVINA Y RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD APLICADAS EN GRANJAS LECHERAS DE CATALUÑA Y GALICIA**

Benavides B, Allepuz A, Yus E, Casal J, Jubert A, Molins M, Lázaro M, Aquile B, Eiras C, Arnaiz I, Moya S, Diéguez J

337 **CALICIVIRUS ENTÉRICOS EN LAS DIARREAS DEL TERNERO: DESARROLLO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA SU IDENTIFICACIÓN Y DIFERENCIACIÓN**

Benito A, Arnal JL, Serrano JD, Barrios J, Chacón G, Balsega R

338 **DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE LEPTOSPIROSIS EN GRANJAS DE VACAS LECHERAS EN EL NORESTE DE ESPAÑA**

Puigcorbé I

339 **EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INTOXICACIONES DEL GANADO VACUNO: SITUACIÓN EN ESPAÑA**

García-Arroyo R, Puente E, Quiles A, Hevia ML, Míguez MP

REPRODUCCIÓN - CALIDAD DE LECHE

339 **SECADO SELECTIVO: DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA**

Mallo J, Pico A, Redondo J, Sesto F

340 **CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA Y PARÁMETROS DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE DE TANQUE EN GRANJAS DE BOVINO LECHERO EN GALICIA**

Saavedra FJ, Yus E, Diéguez FJ

341 **IMPACTO DE LAS MASTITIS SUBCLÍNICAS EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE LOS BOVINOS LECHEROS**

Fraga C, Pinho L. Bexiga L, Carvalheira J

342 **ASOCIACIÓN ENTRE SALUD UTERINA, CICLICIDAD OVÁRICA Y CONDICIÓN CORPORAL EN EL POST-PARTO EN VACAS LECHERAS EN PASTOREO**

Rojas E, Herlihy MM, Kenneally J, Grant J, Lonergan P, Butler ST

342 **ENSAYO DE UN TRATAMIENTO DE POSTRANSFERENCIA EN NOVILLAS FRISONAS RECEPTORAS DE EMBRIONES COMO ESTRATEGIA PARA MEJORAR SU FERTILIDAD**

Fuentes S, Sierra A, Domínguez JC

343 **LA DEPHERELINA (ANÁLOGO SINTÉTICO DE LA GNRH) COMO INDUCTOR DE LA OVULACIÓN, APLICADA AL FINAL DE UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO DE CINCO DÍAS CON PROGESTERONA REDUCE EL FRACASO OVULATORIO COMPARADO CON LA GONADORELINA (GNRH NATURAL) EN VACAS LECHERAS DE ALTA PRODUCCIÓN**

García-Ispierto I, Serrano-Pérez B, Nunes JM, Prades B, Perez-Salas JC, López-Gatius F

344 **DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE VACAS LECHERAS RESINCRONIZADAS CON PROTOCOLOS INCLUYENDO O NO GNRH PREVIO AL DIAGNÓSTICO DE NO PREÑEZ**

Wijma R, Pérez M, Masello M, Stangaferro M, Giordano J

345 **DESCRIPCIÓN ECOGRÁFICA DE UN CASO DE INTERSEXO**

Rodas R, Vázquez J, Nieto P, Calle G, Dutan J, Murillo y, Serpa G, Ortuño C, González JV, Ayala L

345 **DIAGNOSIS OF CYTOLOGICAL ENDOMETRITIS IN DAIRY COWS: AGREEMENT BETWEEN ENDOMETRIAL CYTOLOGY AND ULTRASOUND**

Lorenzo G, Cainzos J, Quintela LA

SANIDAD

346 **DIARREA VÍRICA BOVINA (BVD) HERRAMIENTAS DE CONTROL**

Jubert A, Lázaro M

347 **ESTUDIO DEL MANEJO DEL CALOSTRO EN CONDICIONES TRADICIONALES DE CRÍA, EN LA PROVINCIA DEL AZUAY, ECUADOR**

Rodas R, Vázquez J, Nieto P, Calle G, Dutan J, Murillo Y, González JV, Ayala L

348 **SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE AISLAMIENTOS DE MYCOPLASMA BOVIS PROCEDENTES DE CEBADEROS ESPAÑOLES**

García-Galán A, Gómez-Martín A, García A, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, Alcázar J, De la Fe C

348 **15 AÑOS DE PROGRAMA DE CONTROL VOLUNTARIO FRENTE AL IBR EN GALICIA: SITUACIÓN ANTE UN PROGRAMA DE ERRADICACIÓN**

Arnaiz I, Eiras C, Carnero MI, Rubinos V, Calavia PM, Cortón ME, López M, Yus E, Diéguez FJ, Orejas JJ, Mourelo JE, Martínez S

349 **IMPLANTACIÓN EN GRANJA DEL KIT IDEXX BVDV AG POINT-OF-CARE TEST PARA LA MONITORIZACIÓN DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS**

Pineda M, Pico A, Manso A

350 **DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES PUNTOS DE MEJORA IDENTIFICADOS EN EL MANEJO DE LAS TERNERAS DURANTE LAS PRIMERAS EDADES**

Carbonell C, Pilar C, Ibáñez A Elvira L

PODOLOGÍA Y GESTIÓN

351 **BAÑOS DE PEZUÑAS EN EXPLOTACIONES LECHERAS EN ESPAÑA; ESTUDIO DESCRIPTIVO**

Pineda, Peris E, Silva-del-Río N, García-Muñoz A

353 **GESTIÓN DE PERSONAL: ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL EN GANADERÍAS GALLEGAS**

Trillo Y

355 **PÓSTER**

CALIDAD DE LECHE

356 **VALIDACIÓN DE UNA QPCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN MUESTRAS DE LECHE CON CONSERVANTES**

Díaz-Cao JM, Prieto A, Díaz P, Benito A, Arnal JL, Baselga R, López-Lorenzo G, Panadero R, López C, Iglesias A, Pombo MB , Barreal ML, Lorenzana R , Morrondo P, Díez-Baños P, Fernández G

356 **PREVALENCE STUDY ON PATHOGENS PRESENT IN SPAIN USING UDDERCHECK**

Ordis P, Mato I, Barreto M

357 **IMPACTO DE UN BROTE DE LEPTOSPIROSIS EN LA SALUD DE UBRE DEL REBAÑO**

Franquesa O, Herrera D, Hurtado L, Heras J

REPRODUCCIÓN

358 **RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DEL GANADO VACUNO EN DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS DEL NORTE DE ESPAÑA**

Pereira V, Rodríguez R, Miranda M, Fouz R, Orjales I, López M

359 **LA IMPORTANCIA DE ELEGIR UN BUEN SEMENTAL: TOROS JÓVENES DEL CENTRO DE TESTAJE DE LA RAZA BRUNA DELS PIRINEUS CON VALORACIÓN DE SU APTITUD REPRODUCTIVA**

Fina MOrriols M, Casellas J, Piedrafita J, Rodríguez-Gil JE, Rigau T

359 **EVALUACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN LECHE MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO MEDIO (MIR)**

Cardoso-Toset F, Jurado-Martos F, Serrano A

360 **EFFECT OF THE BOVINE GRANULOCYTE-STIMULATING FACTOR (RBG-CSF) ON UTERINE HEALTH OF POSTPARTUM DAIRY COWS**

Lorenzo G, Quintela LA

CEBO - VARIOS

361 **INTOXICACIÓN BOTULÍNICA EN TERNEROS DE CEBO: CASO CLÍNICO**

Estrada C

362 **SITUACIÓN ACTUAL DE LAS RAZAS BOVINAS DE ESPAÑA EN EL BNGA**

Bartolomé C, Cuevas FJ, Oliet A, Diez RM, Martín M, Tejerina F, Castellanos M, Moreno S

363 **CONTROL DE RENDIMIENTO CÁRNICO DE LAS RAZAS BERRENDO EN NEGRO Y BERRENDO EN COLORADO EN CENTROS DE TESTAJE EN 2017**

Bartolomé C, Cuevas FJ, Valera P, González A, Moreno S

SANIDAD

364 **PARÁSITOS DIGESTIVOS EN GRANJAS INTENSIVAS DE GANADO VACUNO DE LECHE Y SU RELACIÓN CON DISTINTOS INDICADORES DE BIENESTAR ANIMAL**

Díaz P, Panadero R, Verdes S, Pérez A, Remesar S, Díaz-Cao JM, Nebot C, Prieto A, Franco CM, López G, Iglesias A, Quintela L, Fernández G, Diez-Baños P

365 **VALORACIÓN DEL APORTE SUPLEMENTARIO DE VITAMINA D COMO MÉTODO COMPLEMENTARIO PARA EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS EN GANADO BOVINO**

Benítez-Medina JM, Martínez R, Galapero J, Gómez L, Jiménez N, García A, López F, Rodríguez C, Hermoso de Mendoza J

366 **EFICACIA EN EL BLOQUEO DE LA CIRCULACIÓN VÍRICA DE IBR EN UNA GRANJA COMERCIAL**

Turón LL, Campillo JP

367 **PRESENCIA DE *MYCOPLASMA BOVIS* EN BOVINO DE CEBO Y LECHERO EN EXPLOTACIONES ESPAÑOLAS**

García-Galán A, Gómez-Martín A, García A, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, Alcázar J, Mas A, De la Fe C

368 **EVALUACIÓN DE DIFERENTES MUESTRAS PARA DETECTAR LOS PRINCIPALES PATÓGENOS RESPIRATORIOS EN BOVINO**

Arnal JL, Benito A, Bello A, Da Silva C, Fernández A, Sanz C, Alzuguren O, Serrano JD, Barrios J

368 **PRESENCIA DE *MYCOPLASMA BOVIS* EN TERNEROS CEBADOS SIN RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO**

García-Galán A, Ortega J, Rosell J, Sylvie Danielle Vautier L, Alomar J, Quereda JJ, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, De la Fe C, Gómez-Martín A

370 **MONITORIZACIÓN DE LA SALUD Y CRECIMIENTO DE LAS TERNERAS PARA EVALUAR UN PROGRAMA VACUNAL FRENTE A DIARREA NEONATAL Y SRB**

Carbonell C, Pilar C, Laria R, Ibáñez A, Elvira L

MEDICINA - CIRUGÍA - PODOLOGÍA

371 **CASO CLÍNICO: MEDULOBLASTOMA EN UN TERNERO DE RAZA RUBIA GALEGA**

Rigueira L, Espino L, Barreiro D, López-Peña M, Prieto A, Méndez D, Fidalgo LE, Miranda M

371 **EFECTO DEL RECORTE FUNCIONAL DE LOS ANIMALES EN LACTACIÓN SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE**

Molinero A, Trillo Y, Pineda M

372 **RESOLUCIÓN QUIRÚRGICA DE UNA FRACTURA DE FÉMUR DISTAL, EN UNA TERNERA, MEDIANTE LA TÉCNICA DEL POLICLAVO INTRAMEDULAR**

Zurita M

GESTIÓN

373 **INFLUENCIA DEL RATIO ESPACIO COMEDERO/ANIMAL EN LOS ÍNDICES PRODUCTIVOS EN CEBADEROS DE TERNEROS PASTEROS CRUZADOS**

Guarnido P, Ibáñez-Pernía Y

374 **MODELIZACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS POR CALOR EN DIFERENTES ZONAS DE ESPAÑA Y EL IMPACTO TÉCNICO Y ECONÓMICO DE LAS MEDIDAS DE CONTROL**

Espinoza O, Calsamiglia S

375 **EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE SUSTANCIAS FARMACOLÓGICAS EN AGUA EN EXPLOTACIONES GANADERAS LECHERAS DE LUGO**

Nebot C, Veiga-Gómez M, Quintela LA, Becerra JJ, Verdes S, Díaz P, Díaz- Cao JM, Cepeda A, Franco CM

375 **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA EN EXPLOTACIONES GANADERAS LECHERAS DE LUGO**

Nebot C; Veiga-Gomez M, Verdes S, Herradon PG, Prieto A, Díez-Baños P, Cepeda A, Franco CM

XXIII

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Dejemos huella

2018

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y PÓSTER

CURRÍCULOS



ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA



DR. MICHAEL ALLEN

Departamento de Ciencia Animal
Profesor Distinguido de la Universidad 2265A Anthony Hall
Licenciado: BS, Universidad de Cornell - MS, Universidad de Cornell - PhD, Universidad de Cornell
Investigación: Fisiología Nutricional y Digestiva, Nutrición de los Rumiantes
La investigación de su laboratorio se centra en la integración de la digestión y el metabolismo en los rumiantes, haciendo hincapié en los efectos de los combustibles metabólicos en la ingesta y el reparto de energía. Evaluamos las características físicas y químicas de las dietas en cuanto al tipo, la absorción temporal y los efectos fisiológicos de los combustibles que usan vacas lactantes como nuestro modelo animal principal. Las variables de respuesta incluyen el comportamiento de alimentación, el sitio de digestión, la respuesta endocrina, la expresión génica en diversos tejidos, la movilización / acreción de tejidos y el rendimiento de los componentes de leche y leche.
Extensión
El programa de extensión tiene un énfasis principal en las respuestas fisiológicas y de producción de las vacas a los tratamientos dietéticos durante el ciclo de lactancia. El programa está dirigido a nutricionistas, veterinarios y otras personas con experiencia en la formulación de dietas para vacas lecheras.



DR. JEFFREY BEWLEY

Jeffrey Bewley es de Rineyville, Kentucky, donde creció trabajando en la granja lechera de su abuelo (Hilary Skees). Recibió un B.S. en Ciencias Animales de la Universidad de Kentucky en 1998. En 2000, completó su M.S. en Dairy Science en la Universidad de Wisconsin-Madison bajo la dirección del Dr. Roger Palmer.
Su trabajo de doctorado bajo la dirección del Dr. Mike Schutz en la Universidad de Purdue se centró en la aplicación y la economía de las tecnologías de Precision Dairy Farming.
Durante nueve años y medio, fue especialista en extensión de productos lácteos en la Universidad de Kentucky.
Actualmente es Gerente de soporte para BoviSync, LLC, un proveedor de software de gestión de rebaños lecheros y socio de CowFocused Housing, una empresa de consultoría para instalaciones lecheras.



DR. RODRIGO BICALHO

Profesor asociado en la Universidad de Cornell

Doctor por la Universidad de Goiás, Brasil. Comenzó como residente en Cornell en el año 2005 y actualmente es profesor asociado. Sus campos de investigación incluyen cojeras, mamitis y metritis. También los aspectos que afectan a la eficacia reproductiva y la utilización de bacteriófagos como herramientas diagnósticas y terapéuticas en las infecciones bacterianas. En su doctorado en Cornell desarrolló una interesante investigación en la etiopatogenia de las ulceras solares en las vacas lecheras poniendo en discusión si las vacas cojas están delgadas o las vacas más delgadas tiene una mayor predisposición a sufrir úlceras solares. También desarrollara otra interesante presentación sobre métodos quirúrgicos en granja alternativos a la amputación en las osteoartritis. El Doctor Bicalho también quiere presentar un trabajo reciente sobre microbiología del útero postparto.



DR. ANDREW BIGGS

Hijo de un distinguido profesor de veterinaria, Andrew es un académico reconocido internacionalmente a pesar de estar inmerso en la práctica general diaria desde que se incorporó como un nuevo graduado en 1981.
Ahora actúa como consultor internacional en mastitis, tuberculosis y salud del ganado en general.
Ex presidente de la Asociación Veterinaria de Ganado Británico, ha escrito y dictado extensamente y producido su propio libro de texto “Mastitis en el ganado”, así como la creación y funcionamiento del Laboratorio Vall Veterinary Group.



DR. VÍCTOR CABRERA

El Dr. Víctor E. Cabrera es profesor y especialista en extensión en la gestión de granjas lecheras en el Departamento de Producción Lechera de la Universidad de Wisconsin-Madison. Combina la investigación aplicada, los procesos interdisciplinarios y los métodos participativos para desarrollar y entregar herramientas de soporte de decisiones que sean fáciles de usar, basadas en la información científica más reciente, y fáciles de usar y aplicar. Estas herramientas científicas están ayudando a mejorar la rentabilidad, el impacto ambiental y la sostenibilidad de las granjas lecheras. En su corta carrera, el Dr. Cabrera ha desarrollado más de 45 herramientas científicas, publicado 55 artículos científicos, 5 capítulos de libros, presentado en más de 100 sesiones científicas y ha dado más de 170 charlas de extensión en Wisconsin, los Estados Unidos de América, y América y muchos otros países alrededor del mundo. Su trabajo en los últimos años ha contribuido al logro de más de $ 4 millones en fondos competitivos para financiar su trabajo de investigación y extensión. El Dr. Cabrera ha sido galardonado con los prestigiosos premios de: "University of Wisconsin-Madison Vilas Faculty Mid-Career Investigator Award (2016), Second Mile Extension Award de la Wisconsin Association of Agricultural County Agents (2013), el Pound Extension Award (2012) y el Alfred Toepfer Faculty Fellow Award (2011) de la Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida de la Universidad de Wisconsin, el Distinguished Achievement Award de la Escuela de Recursos Naturales y Medio Ambiente de la Universidad de Florida (2012) y el Foundation Scholar Award in Dairy Producción de la American Dairy Science Association (2011). El Dr. Cabrera administra el portal web "Dairy Management" http://DairyMGT.info, donde están disponibles sus publicaciones, herramientas y presentaciones.



DR. SARNE DE VLIEGHER

Sarne De Vliegher se graduó como veterinario de la Universidad de Ghent, Bélgica, en 1998, después de lo cual comenzó a trabajar en la Facultad de Medicina Veterinaria de esta Universidad, en el Departamento de Reproducción, Obstetricia y Salud del rebaño (www.rohh.UGent.be). Defendió su tesis doctoral sobre la mastitis de la novilla en 2004 después de haber trabajado en el Atlantic Veterinary College de la Universidad de Prince Edward Island, Canadá, durante algunos meses. En ese mismo año terminó un máster en Epidemiología Veterinaria y Economía de la Salud Animal en la Universidad de Utrecht, Países Bajos, y obtuvo un título como experto judicial de la Universidad de Ghent. En 2006 se convirtió en Diplomado del Colegio Europeo de Salud Pública Veterinaria (www.ecvph.org). Mientras tanto, trabajó en la práctica veterinaria de la Universidad durante siete años.

Desde 2005, Sarne De Vliegher enseña legislación veterinaria, deontología y gestión de prácticas en la Universidad de Ghent. Ha sido gerente de la práctica veterinaria bovina de la universidad durante 10 años, y actualmente cuenta con 9 estudiantes de doctorado y 3 postdoctorales en su equipo que trabajan en el área de la mastitis y la calidad de la leche con un enfoque en el papel de los no aureus estafilococos para la salud de la ubre bovina y el consumo de antimicrobianos en las granjas lecheras. Él dirige M-teamUGent (www.m-team.UGent.be), trabajando con veterinarios, agricultores y la industria en problemas de mastitis y calidad de la leche y es cofundador y copropietario de MEXTM (www.mexcellence.eu). una empresa spin-off centrada en herramientas y conceptos para facilitar el manejo de la mastitis en todo el mundo.

Ha sido miembro activo durante años del European Mastitis Panel (MSD Animal Health) y del Global Expert Quality Quality Forum (Boehringer Ingelheim).

Sarne fue orador principal en múltiples conferencias internacionales y reuniones en todo el mundo (Canadá, EE. UU., Brasil, China, Nueva Zelanda, Europa), participó en investigaciones sobre la mastitis y la calidad de la leche en Etiopía y es autor de > 140 publicaciones en revistas internacionales revisadas por pares, de las cuales 52 en Journal of Dairy Science. Con su equipo, organizó la "conferencia sobre la mastitis de las novillas" en 2007 (www.heifermastitis.UGent.be), un taller internacional sobre los estafilococos coagulasa negativos en 2010 (www.cns.UGent.be) y en 2017 (www. cns2017.UGent.be), y la reunión regional del National Mastitis Council en 2014 (www.NMC2014.UGent.be), todo en Ghent, Bélgica.

Actualmente es segundo vicepresidente del National Mastitis Council (www.nmconline.org) después de haber servido varios años como miembro de la junta, y es coeditor en jefe y coproductor de la revista M² (www.m2-magazine.org), una revista internacional sobre mastitis y calidad de la leche para el profesional de la lechería. Recientemente publicó un manual sobre la salud de las ubres bovinas junto con su colega y amigo holandés Theo Lam (www.handboekuiergezondheidrund.be).

Entre 2013 y 2016, Sarne se desempeñó como presidente del Consejo Regional Flamenco de la Junta de Veterinarios de Bélgica y como vicepresidente de la Junta de Veterinarios de Bélgica después de haber sido miembro de la junta.



DR. JAVIER FONTECHA

- Doctor en Ciencias (especialidad Bioquímica) por la Universidad Autónoma de Madrid. (Premio extraordinario a la Tesis Doctoral).

-Actualmente: Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en el Instituto de Investigación en Alimentos (CIAL-UAM). Madrid.

-Jefe del grupo de Investigación: Biomarcadores lipídicos en alimentación y salud.

Línea de Investigación Principal:

Mejora de las características nutricionales de la fracción lipídica de alimentos (en especial de productos lácteos) y su relación con la salud humana.

Mediante:

- Contribución al desarrollo de metodología analítica en la detección de lípidos en alimentos (grasas y aceites) y en muestras biológicas (plasma, eritocitos, tejidos, etc).
- Estudios clínicos del impacto de los lípidos del alimento o de la dieta, en los niveles de marcadores de riesgo de enfermedades crónicas (ej. cardiovascular, obesidad, deterioro cognitivo, etc.) en colaboración con Hospitales.

Contribuciones científicas:

- Es autor o coautor de más de 100 publicaciones internacionales de alto impacto (SCI) y más de 25 capítulos de libro (nacionales e internacionales).
- Ha dirigido 6 Tesis Doctorales (y 2 actualmente en proceso de escritura).
- Más de 15 direcciones de trabajos fin de carrera (de Grado y de Master)
- Proyectos de I+D Financiados en Convocatorias Públicas:
- 7 Participaciones Proyectos Nacionales (10 como Inv. Responsable).
- 7 Participaciones en proyectos o acciones Internacionales.
- Coordinador de 1 proyecto internacional CYTED-Con Iberoamérica.
- 24 Contratos de I+D con Empresas (20 como Investigador Responsable).
- 3 Patentes registradas

Estancias en Centros extranjeros:

- Predoctoral, Post-Doctoral y Researcher (Estados Unidos, Irlanda y Escocia)



DR. ANDREA FORMIGONI

Profesor del Departamento de Ciencias Veterinarias en la Universidad de Bolonia

1985 Licenciado en Medicina Veterinaria (Bolonia).

1986/1992 Jefe del Ministerio de Asuntos Exteriores para el Plan de Desarrollo de la Producción de Leche en la región del Egeo en Turquía coordinado por ANAFI.

1991 Doctorado en fisiología de la reproducción animal

1991 Investigador en la Universidad de Bolonia.

1993/2001- Miembro del "Servicio Veterinario Central para la Protección de Animales Usados con Fines Experimentales" de la Universidad de Bolonia.

1998 Profesor asociado en la Universidad de Bolonia.

2001 Profesor Extraordinario (Nutrición y Nutrición Animal), Universidad de Teramo.

2002 Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Teramo.

Desde 2005 Profesor Titular (Nutrición y Nutrición Animal), Universidad de Bolonia.

Desde 2006 Coordinador Científico de los Establos Educativos de la Universidad de Bolonia.

Desde 2015 Director del II nivel Máster en Ganadería y Salud

Fue miembro del Comité de Gestión y Salud del EAAP.

Fue miembro del Comité Nacional de Seguridad Alimentaria.

Miembro del Comité de Certificación del Departamento de Control de Calidad de Parmigiano Reggiano como experto nutricionista.

Miembro de la Academia Italiana de Agricultura

Miembro de la Asociación Científica de Producción Animal (ASPA), Sociedad Italiana de Ciencias Veterinarias (SISVET), Asociación de Investigadores de Nutrición y Alimentos (ARNA).



DR. PAUL FRICKE

El Dr. Paul Fricke se crió en la granja de productos agrícolas y lácteos de su familia ubicada cerca de Papillion, Nebraska, donde su padre y su tío continúan hoy. Después de recibir un B.S. en Ciencias Animales en 1988 por la Universidad de Nebraska, Paul pasó a completar un M.S. grado en 1992 y un Ph.D. en Fisiología Reproductiva en 1996 por el Departamento de Ciencias Animales de la Universidad Estatal de Dakota del Norte.

Trabajó como Asociado de Investigación Postdoctoral en el Departamento de Ciencias Lecheras en la Universidad de Wisconsin-Madison de 1995 a 1998 y luego se unió a la facultad el 1 de julio de 1998.

El Dr. Fricke fue ascendido a Profesor Asociado en 2004. Profesor en 2009. Su puesto actual incluye un 70% de extensión y un 30% de citas de investigación en reproducción de ganado lechero.

El programa de investigación se centra en la comprensión de la biología que subyace a los numerosos problemas reproductivos del ganado lechero. Es autor o coautor de 85 publicaciones científicas revisadas por pares, 114 resúmenes y 5 capítulos de libros. Él ha sido mentor de 12 M.S. y 4 Ph.D. estudiantes, y su programa de investigación ha atraído más de $ 3 millones en fondos de investigación. En 2014, recibió un año sabático de investigación de seis meses como científico visitante en el Centro de Innovación para la Investigación de Teatrosc Moorepark Animal & Grassland en Fermoy, Co. Cork, Irlanda.

El objetivo del programa de extensión del Dr. Fricke es mejorar la eficiencia reproductiva del ganado lechero aplicando la investigación científica para desarrollar estrategias prácticas de manejo y evaluar nuevas tecnologías reproductivas. Es un orador solicitado y ha hablado con más de 500 audiencias en Wisconsin desde 1998. Además, Paul ha presentado en conferencias en 34 estados de EE. UU. Y 6 provincias canadienses y ha sido orador invitado para reuniones internacionales en 25 países que abarcan 5 continentes alrededor del mundo.

El Dr. Fricke ha recibido varios premios universitarios y nacionales que reconocen sus innovadores programas de investigación aplicada y extensión, incluyendo el Premio al Especialista en Extensión Joven Destacado de la Sección del Medio Oeste (2006), el Premio de Extensión de la Universidad de Wisconsin-Madison de Extensión Agrícola y Ciencias de la Vida (2006), el Premio ADSA DeLaval Dairy Extension Award (2008) y la Asociación de Wisconsin County of County Agriculture Agents Second Mile Award (2010).



DR. ANTONIO GALLO

Antonio Gallo se graduó en la Università Cattolica del Sacro Cuore (UCSC) de Piacenza con una Licenciatura en Ciencias Agrícolas y Tecnología. El 18 de febrero de 2008 recibió un Ph.D. Licenciado en Ciencias de la Nutrición de la UCSC de Piacenza. Defendió una tesis titulada “Dinámica de absorción y excreción de aflatoxinas en vacas lecheras: estrategias técnicas para reducir el metabolismo en la leche”. Durante el doctorado, pasó un período en la Universidad Estatal de Utah, en colaboración con el Profesor Asistente Ph.D D.E. Díaz.

Tiene un título de Investigación en Nutrición Animal en la Università Cattolica del Sacro Cuore (UCSC) de Piacenza, Italia. El 27 de noviembre de 2008 recibió un Ph.D. premio a la mejor tesis en Ciencia de la Producción Animal de AISSA.

Es miembro de diferentes asociaciones científicas nacionales e internacionales (AISSA, ASPA, ADSA, ASAS, EAAP, SD). Sus principales temas de investigación se refieren a la ciencia de la nutrición, la evaluación de piensos y alimentos, la seguridad de alimentos y piensos y el modelado de procesos digestivos y metabólicos en animales.

Es revisor de más de 30 revistas internacionales. Es autor de 120 publicaciones. Más de 60 de estos son artículos revisados por pares publicados en International Journals (indexados en Scopus) y 2 son capítulos de libros.



DR. JUD HEINRICHS

Profesor en la Universidad de Pensilvania

Jud es originario del condado de Sullivan, Nueva York, donde se crió en una pequeña granja de Holstein.

Jud ha estado en Penn State desde 1982 trabajando en las áreas de nutrición y manejo de productos lácteos con énfasis en recria; así como forrajes lácteos con énfasis en el tamaño de partícula de la dieta y la fibra físicamente efectiva. El interés de Jud en el crecimiento y manejo de novillas lecheras le ha permitido trabajar en varios estudios de población sobre sus tasas de crecimiento, así como revisar las cintas de peso Holstein actualmente utilizadas en todo el mundo. También es co-inventor de Penn State Forage y TMR Particle Size Separator.

Jud pasó un año sabático desde 2008 hasta 2009 en la Universidad de Bolonia en Italia estudiando las necesidades de fibra físicamente efectivas de las vacas lactantes. Durante un año sabático anterior de 1991 a 1992 con el USDA, estuvo a cargo del Proyecto Nacional de Evaluación de Novilla Lechera. Es autor de más de 135 artículos de revistas y capítulos de libros, así como muchas publicaciones, principalmente en el área de recría y forrajes.

Investigación

Calf / Heifer Nutrition and Management; Gestión de alimentación de forraje

Nutrición Lechera, Ternero Lechero y Manejo de Novillas.

El Dr. Heinrichs ha patrocinado la construcción del sitio web de Dairy Cattle Nutrition en http://www.das.psu.edu/dairynutrition, que proporciona una gran cantidad de información sobre la nutrición del ganado lechero para el productor de leche.

Premios

Premio Dairy Extension de la American Dairy Science Association de 2013

Premio de forraje lechero de la Asociación Estadounidense de Lechería 2009

Premio de Extensión de la Asociación de Lechería de Pensilvania de 2002

Premio de nutrición láctea aplicada de la American Dairy Science Association de 2000

Empleo

Universidad Estatal de Pensilvania, Profesor desde 1994 hasta el presente

Universidad Estatal de Pensilvania, profesor asociado 1988 a 1994

Universidad Estatal de Pennsylvania, Profesor auxiliar 1982 a 1988

Liberty Mills, consultora de nutrición, 1979 a 1982

Instituto Técnico Agrícola, Instructor, 1980 a 1981

Universidad Estatal de Ohio, Asistente de Investigación de Posgrado, 1977 a 1982



DR. RICHARD HOPPER

El Dr. Richard Hopper se graduó en 1978 de la Facultad de Medicina Veterinaria de Auburn. Después de casi 15 años de práctica mixta de animales predominantemente grandes en Oneonta, Alabama; se unió a la facultad del Colegio de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Misisipi en 1993 y actualmente es profesor y jefe de la Sección de Medicina Animal, Terapia de Animales y Terapia Ambulatoria. Diplomado del American College of Theriogenologists, se ha desempeñado como presidente de la Asociación Médica Veterinaria de Mississippi y de la Society for Theriogenology. Fue el editor de “Reproducción bovina” publicado por Wiley Publishing en noviembre de 2014. Ha recibido el Veterinario del año por Mississippi dos veces (2008, 2017), el premio El Toro por la excelencia en la medicina animal de Auburn. en 2014, y Theriogenologist of the Year del American College of Theriogenologists en 2016.



DR. JOSÉ HILARIO MARTÍN

Licenciado en Veterinaria (DVM), Máster en Ciencias y Certificado en Estudios Superiores (CES) por la ENV de Alfort (Francia), Diplomado en Epidemiología Humana y Animal por el Instituto Pasteur de París y Executive MBA por el IE Business School.

Conocedor del negocio de la sanidad y el bienestar animal desde dentro. Clínico de animales de compañía en sus inicios. Dedica 15 años a la industria farmacéutica veterinaria, compaginando el trato con el cliente y la gestión de equipos humanos desde sus funciones como director comercial y director general de empresas multinacionales.

Miembro de la Junta Rectora de VETERINDUSTRIA (Asociación Empresarial Española de la Industria de Sanidad y Nutrición Animal) y representante de la misma en su Comité Técnico Permanente entre 2000 y 2005.

En 2006, su pasión por profundizar en el conocimiento de las motivaciones del ser humano le lleva a orientar su carrera al entrenamiento de habilidades a profesionales y directivos.

Fiel a otra de sus pasiones, ha colaborado como experto de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y el International Livestock Research Institute (ILRI) en misiones de cooperación internacional y ayuda al desarrollo en el ámbito de la sanidad animal y la seguridad alimentaria.

Amplia formación y experiencia en Coaching y Programación Neurolingüística (PNL), certificado en Coaching con PNL, competencias directivas, oratoria y comunicación.

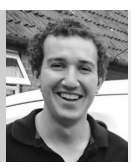
Consultor asociado del Grupo ACTITUDINE desarrollando programas de competencias directivas entre 2007 y 2009.

Fundador y director de martinsantos. Desde 2006 ejerce como consultor y asesor de empresas veterinarias en el área de la gestión estratégica de negocio, entrenador de equipos profesionales, formador y conferenciante.

Colaborador habitual en revistas y publicaciones del sector veterinario. Ponente en foros y simposios relacionados con la gestión de empresas veterinarias. Conferencista internacional, ha impartido ponencias y seminarios en varios países de Europa y Latinoamérica.

Entre sus clientes se encuentran empresas multinacionales del sector farmacéutico, empresas de sanidad animal, cooperativas agropecuarias, asociaciones y colectivos profesionales y clínicas veterinarias.

Es, además, propietario y director-gerente del Hospital Veterinario Arturo Soria, Madrid.



DR. REUBEN NEWSOME

El Dr. Reuben Newsome es un veterinario de granja e investigador clínico que trabaja en una práctica veterinaria grande y predominantemente láctea en el suroeste de Inglaterra: Synergy Farm Health. La práctica emplea a 32 veterinarios de granja, 11 técnicos veterinarios (Vet Techs) que ofrecen principalmente servicios de cojera, incluido el recorte de pies, y muchos otros miembros del personal trabajan en los departamentos de laboratorio, dispensario y administración. La gran experiencia del equipo permite que la práctica ofrezca soluciones veterinarias expertas, además de servicios de extensión e investigación.

Reuben se licenció como veterinario en la Universidad de Nottingham en julio de 2017, habiendo completado un doctorado en Nottingham que investigaba la patogénesis de las lesiones del cuerno de la uña, que intercalaba entre el 4 ° y el 5 ° año de los estudios veterinarios. El doctorado se centró en la función del cojín digital, la degeneración de la tuberosidad flexora con cojera prolongada y el corte funcional del pie.

Además del trabajo clínico, parte de la función de Reuben es trabajar dentro de la Cattle Lameness Academy, que fue establecida por la práctica en 2016 y es el paraguas de todos los servicios de cojera, así como de capacitación e investigación. El equipo de Synergy Farm Health trabaja con Vet Techs para ofrecer prevención de cojera, detección temprana y tratamiento efectivo de la cojera, y con otras organizaciones para difundir ese mensaje.



DR. VALENTIN PÉREZ

Valentín Pérez ejerce su actividad docente e investigadora en el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León (ULE) y en el Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Es licenciado y doctor en veterinaria por la Universidad de Zaragoza y ha desempeñado su actividad profesional, entre otros centros, en el Moredun Research Institute (Edimburgo, Gran Bretaña) y desde 1995 en la ULE. Ha realizado asimismo estancias en las Universidades de Cornell y de California en Davis (Estados Unidos). Es Diplomado del "European College of Small Ruminant Animal Health and Management" (ECSRHM) y del "European College of Veterinary Pathology" (ECVP), que reconoce a los especialistas en anatomía patológica veterinaria. Desde 1995, desempeña una labor continuada en el servicio de diagnóstico de la Facultad de Veterinaria de León, especialmente en necropsias de rumiantes. En el campo investigador, sus estudios se centran en el ámbito de las enfermedades producidas por agentes infecciosos intracelulares en rumiantes, principalmente las producidas por micobacterias (paratuberculosis). Así mismo, colabora en labores de asistencia técnica e investigación con varias empresas farmacéuticas, veterinarios clínicos y asociaciones de ganaderos. Ha publicado más de 175 artículos de investigación y divulgación, financiados por proyectos regionales, nacionales y europeos, habiendo sido investigador responsable de varios de ellos. Ha formado parte del comité científico de varios congresos nacionales e internacionales, y pertenece a varias asociaciones científicas, ANEMBE y SEOC entre otras.



DR. KY G. POHLER

Educación
Doctor Ciencia animal - Universidad de Missouri, Columbia.
Doctor en Minor (Enseñanza Universitaria) - Universidad de Missouri
SRA. (Ciencia animal) - Universidad de Missouri
B.S. (Ciencia animal) - Texas A & M University, College Station
Interés profesional:
Mecanismos asociados con la fertilidad y la eficiencia reproductiva en el ganado.
Su interés de investigación se centra en la comprensión de los mecanismos fisiológicos y moleculares que controlan la eficiencia reproductiva en el ganado. Más específicamente, su laboratorio está interesado en los mecanismos que conducen a la mortalidad embrionaria y fetal en el ganado y al desarrollo de estrategias de manejo para superar estas pérdidas.
En un esfuerzo por comprender la eficiencia reproductiva en el ganado, el foco primario de investigación de su laboratorio es:
1. Elucidar los mecanismos fisiológicos y moleculares asociados con la fertilidad en el ganado, principalmente la mortalidad embrionaria tardía utilizando modelos de predicción in vivo que se basan en glicoproteínas asociadas al embarazo o PAG.
2. Desarrollar modelos in vivo para predecir y estudiar la mortalidad embrionaria temprana utilizando microARN derivados de exosomal
3. Desarrollar estrategias de manejo que puedan aumentar la eficiencia reproductiva en el ganado.



DR. ALLEN ROUSSEL

Educación
- M.S. Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad Purdue 1984
- D.V.M. Medicina Veterinaria, Louisiana State University 1977
- Diplomado de facto, European College of Bovine Health Management
- Diplomado, Colegio Estadounidense de Medicina Interna Veterinaria
- Licencia de Veterinaria de Texas: 4218

Intereses académicos
Alimentos, medicina animal, enfermedad de Johne, medicina interna y carne de cabra. Paratuberculosis, pruebas e interpretación de diagnóstico de laboratorio clínico, motilidad gastrointestinal de animales domésticos, balance de líquidos y electrolitos en animales grandes.



DR. ROD POLKINGHORNE

El doctor Rod ha sido reconocido por sus muchos años de servicio a la industria de la carne roja en Australia y en todo el mundo.

Es director de Birkenwood International, un innovador líder en la industria mundial de la carne roja con un enfoque específico en el desarrollo de sistemas de calidad alimentaria y su aplicación comercial.

Rod también participa activamente en la industria de la carne de res y, con su socia Judy Philpott, dirigió un negocio completo de la cadena de suministro "Paddock to Plate" durante 10 años.

En este innovador modelo empresarial, la innovación abarcó las prácticas agrícolas, el transporte, las prácticas de sala de deshuesado, las líneas de corte y las especificaciones de recorte, el desarrollo de sistemas de software y un nuevo concepto de carne en el centro de Melbourne, llamado Polkinghorne's.

Los puntos de venta proporcionaron cortes secundarios de valor agregado y comidas cocinadas que representan un nuevo nivel de atención al consumidor que proporcionaba una garantía de calidad alimentaria para cada producto de carne de res y comida vendida. La grabación precisa de todos los componentes de la carcasa junto con las entradas de grado MSA permitió desarrollar e implementar una estructura de marketing basada en el valor (VBM) completamente transparente. Según nuestro conocimiento, fue el primer sistema VBM verdaderamente transparente a nivel mundial y la retroalimentación asociada ayudó a impulsar el cambio en el cumplimiento del ganado.

•



DR. GAVIN STALEY

Nacido y criado en Sudáfrica. Se graduó como veterinario en 1984 en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Pretoria, Sudáfrica. Después del servicio militar obligatorio de dos años, pasó varios años en la facultad de la U. de Pretoria como profesor de reproducción. Durante este tiempo completó los requisitos para el título de especialista graduado en reproducción (MMedVet). Pasó a la práctica privada y se unió a la práctica veterinaria de Howick en KwaZulu Natal, donde se centró en la práctica de los productos lácteos y el trabajo de los sementales equinos. En 1998 emigró a los Estados Unidos y practicó en una granja de animales en Wisconsin, Estados Unidos. Durante este tiempo (2001) completó con éxito el examen de Diplomate Status en el American College of Theriogenologist's. En 2003 hizo la transición a la industria láctea en California como Especialista de Servicios Técnicos. Consultor de grandes rebaños, principalmente en California, pero también en todo Estados Unidos e internacionalmente. Los intereses se han centrado en el análisis de registros lácteos (DC305 y DHI Plus), la reproducción de productos lácteos, el manejo de la vaca de transición, la comodidad de la vaca y la reducción del calor.



DR. GEORGE STILWELL

Licenciado en Medicina Veterinaria (1986) por la Universidad de Lisboa. Doctor en 2009 en: "Evaluación y control del dolor causado por la intervención rutinaria en el ganado". Diplomado por el European College on Bovine Health Management desde 2005. Trabajó como practicante de animales de granja desde 1986 hasta 2001. Actualmente imparte la Clínica de animales de granja y también Bioética en la Universidad de Lisboa. Jefe del laboratorio de investigación. sobre el comportamiento y el bienestar animal. Coordinador nacional del proyecto financiado por la UE AWIN-Animal Welfare Indicators. Miembro de varios grupos de trabajo de EFSA sobre salud y bienestar del ganado. Miembro del Consejo Director de Ordem Médicos-Veterinários. Publicó varios artículos y libros, a saber, "Clínica de Bovinos" y "Bem-estar em Ruminantes".

XXIII

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Dejemos huella

2018

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y PÓSTER

PONENCIAS



ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN FUTURA DE LA NUTRICIÓN, GESTIÓN Y EL CRECIMIENTO EN LA VIDA TEMPRANA

J. Heinrichs y S. L. Gelsinger

Departamento de Ciencia Animal
Universidad del Estado de Pennsylvania

Las novillas lecheras representan un gran gasto de recursos, incluyendo el alimento, las instalaciones, y la mano de obra; sin embargo no generan ingresos para la explotación lechera hasta que paren. Por lo tanto nuestro objetivo general debe ser minimizar los costes y maximizar la rentabilidad de los gastos incurridos. Nuestra gestión global de estas terneras debe ser manejada de una manera que produzca la ternera de mejor calidad, con el mayor potencial para ser productiva, rentable, con un coste mínimo para la granja y el medio ambiente.

Alimentar a las terneras lecheras y a las novillas puede ser difícil, ya que queremos alimentar a las novillas tanto como sea posible para obtener un crecimiento rápido para que puedan comenzar a lactar a una edad temprana, con un gran tamaño corporal al momento del parto, en relación a su peso en la madurez. Sin embargo, hay cuestiones relacionadas con el rápido crecimiento y un alto nivel de consumo de alimento que pueden ir en contra de los beneficios y la economía de esas prácticas.

Al considerar el crecimiento de reemplazo lechero, sabemos que las vaquillas lecheras crecen a un ritmo mayor en términos de peso corporal y crecimiento esquelético, desde el nacimiento hasta la pubertad Brody (1945). En la actualidad en muchas de las novillas Holstein, esto significa desde los 8-10 meses de edad. En la pubertad, las tasas de crecimiento tienden a disminuir en base a un porcentaje, y el crecimiento va desde a los tejidos musculares y óseas predominantemente a acumular algo más de grasa (Brody, 1945).

La glándula mamaria también se desarrolla a un ritmo rápido durante la pubertad y pueden verse afectada por tasas de crecimiento animal durante este periodo de tiempo (Tucker, 1987). El crecimiento en este período de destete a la pubertad ha sido ampliamente estudiado y un meta-análisis ha demostrado que el ADG óptimo para el desarrollo de una novilla pre-púberal es de unos 1,75 kg/d (800 g/d; (Zanton and Heinrichs, 2005). Es evidente que hay una gama de ADG casi óptima para una vaquilla de esta edad y permite que un productor lechero criar las novillas de 1,7 a 1,9 kg/d sin pérdidas apreciables en la producción potencial.

Una vez que se alcanza la pubertad, varios conjuntos de datos muestran que el ADG no afecta a la producción de leche siempre y cuando el peso corporal (BW) cumple con el objetivo de aproximadamente el 85 a 90% del peso corporal (BW) de un animal maduro y recomendamos el 95% de la estatura madura. Aunque los datos son menos recientes y exigentes en este tema, hay estudios que muestran este efecto (Fisher *et al.*, 1983, Keown and Everett, 1986).

El sistema digestivo de la ternera también está madurando durante el período de pre-destete cuando la ternera está madurando desde un animal monogástrico a rumiante. El más notable de los cambios en los principales procesos metabólicos durante el desarrollo ruminal es el cambio de un hígado glicolítico a glucogenico (Baldwin *et al.*, 2004). A medida que el rumen comienza a desarrollarse y la fermentación microbiana aumenta, hay menos carbohidratos disponibles para la digestión posruminal y el suministro dietético de glucosa disminuye. La investigación ha demostrado que existe una reducción sustancial de la tasa de gluconeogénesis del lactato en las células del hígado de terneras rumiantes y los datos muestran una gran disminución en la capacidad de metabolizar el lactato en glucosa cuando los terneros desarrollan el rumen (Baldwin *et al.*, 2004). Esta transición provoca enormes ramificaciones metabólicas en el índice de crecimiento de la ternera, a medida que los tejidos deben pasar de depender de la glucosa que obtienen de la leche suministrada al metabolismo de los ácidos grasos de cadena corta como sustratos de energía primaria. Los estudios muestran que los terneros puedan efectivamente utilizar Propionato de síntesis de glucosa en el hígado a partir de los primeros años de vida (Donkin and Armentano, 1995). Una vez que el rumen se desarrolla, el ternero puede ser un animal que digiere eficientemente almidón y alimentos basados en fibra, que son menos costosos. Mientras los cambios físicos más dramáticos que ocurren durante el desarrollo están asociados con el epitelio del rumen, los cambios en la masa intestinal y en el metabolismo están ocurriendo también en respuesta a los cambios en la dieta. Además también se ha demostrado que el butirato, el producto final de la digestión ruminal del almidón, mejora el desarrollo del tejido de absorción intestinal (Gorka *et al.*, 2011). Es importante hacer el cambio a una digestión basada en el rumen a una edad temprana, y una vez que comience debe desarrollarse a un ritmo razonable para garantizar la eficiencia de la digestión y utilización de los piensos.

Al estudiar el promedio de ganancia diaria de una ternera en lo que se refiere a la economía y la capacidad de producción. Buscando lo que afecta típicamente el ADG de una ternera, sabemos que es el consumo de materia seca (alimentos líquidos, primeros alimentos y/o el forraje) y la salud (que abarca muchas cuestiones que pueden afectar a la ternera); (Place *et al.*, 1998). Un estudio longitudinal de crecimiento de las novillas de 21 granjas comerciales desde el nacimiento hasta varias lactancias mostró que un factor significativo relacionado con las terneras que afectó positivamente la producción de leche en la primera lactancia fue la ingesta de materia seca al destete. (Heinrichs and Heinrichs, 2011) Esto fue seguido por la salud del ternero que es un factor importante que tiene un efecto negativo en la futura producción de leche.

En un reciente estudio de datos sobre el crecimiento de los becerros a través de diversos experimentos de nutrición, los resultados sugieren que la tasa de crecimiento pre-destete es una importante consideración relativa a la futura producción de leche (Van De Stroet JDS *et al.*, 2016). En este análisis, el primer alimento de las terneras fue la principal variable de las diferencias en las nutrientes de la ingesta, ya que la leche de sustitución fue constante entre los estudios comparados. Este análisis mostró que las novillas de tamaño menor producían menos leche en su primera lactancia tras tener en cuenta las diferencias en BW de las vacas de primera lactancia. Las

vacas pertenecientes a grupos de BW medio cuando eran terneras, producen más leche en la lactancia temprana que las vacas que vienen de grupos con un BW alto cuando eran terneros, después de tener en cuenta las diferencias de altura. Las terneras que crecieron más rápidamente, comían más, y pesaban más cuando se convertían en vacas de primera lactancia y también en vacas adultas. Las terneras que tenían menos estatura tenían un potencial de producción de leche menor y era menos probable que permanecieran en el rebaño después de la primera lactancia. El ADG pre-destete puede ser indicativo de la eficiencia metabólica, por lo tanto, es posible que las terneras eficientes metabólicamente se conviertan en vacas metabólicamente eficientes en su edad adulta (Van De Stroet *et al.*, 2016).

La velocidad de la alimentación o las cantidades de nutrientes también han sido señaladas como factores que pueden influir en la producción de leche en la primera lactancia. En los últimos 5 años o más, ha habido una tendencia a alimentar más leche o sustituto lácteo (replacer) debido a que esta práctica no sólo suministra más nutrientes necesarios para un crecimiento rápido, pero también puede permitir que el animal produzca más leche en la primera lactancia. Se han realizado varios estudios para abordar esta cuestión. Un meta análisis reciente (Gelsinger *et al.*, 2016) muestra los resultados de todas las publicaciones de las investigaciones revisadas de los últimos 20 años que miden el efecto de la ingesta de leche o substituto lácteo, la ingesta de alimentación iniciador, y el promedio de ganancia de lácteos antes del destete en la producción de leche de las terneras en su primera lactación (Tabla 1). Como se explicó en el estudio publicado en la revista Journal of Diary Science, dos artículos publicados fueron excluidos del análisis. En primer lugar, el estudio por Bar-Peled *et al.*, (1997) no fue usado ya que los tratamientos fueron completamente confundidos y no se pudieron extraer conclusiones válidas de este estudio ni se pueden utilizar estos datos para comparar los tratamientos. Segundo, no se usó el estudio de Soberon *et al.*, (2012) ya que todas las terneras fueron alimentadas para conseguir altas tasas de ganancia en el mismo nivel (sin control de comparación), sin embargo, se utilizaron dos niveles de grasa en la leche sin contabilizar qué terneras habían tomado cada tipo. No se registró la toma de grano y no se anotó la variación de datos (error estándar o desviación estándar) para permitir el uso de los datos. Los resultados sin embargo fueron bastante similares a los del estudio meta análisis final.

Mientras que los documentos individuales generalmente llegaron a la conclusión de que no hubo efecto, la combinación de los nueve documentos utilizados en el meta análisis revelan cierta información adicional importante. Si bien estos resultados son significativos, es importante que se tenga en cuenta su nivel general, son factores que afectan poco a la producción. El programa de alimentación de las novillas representa en general menos del 3% de la variación en la cantidad leche en la primera lactancia, combinando estos estudios. Muchos factores pueden afectar a la salud y el crecimiento de las novillas y su desempeño en el rebaño lactante. Independientemente de esto el programa de alimentación tuvo algún impacto y la importancia de la alimentación de iniciación con leche o sustituto de la leche fue evidente. Aumentar el consumo de materia seca en relación a la leche o sustituto de la leche en 100grm/d se tradujo en 66 kg más de leche en la primera lactancia. El mismo incremento de la leche o sustituto de la leche resultó en 139kg de leche de más cuando se combina con 100gm/d de leche de iniciación. Estos resultados enfatizan la importancia de proporcionar la energía y la proteína disponible en una dieta líquida además de fermentables sólidos que pueden ofrecer los productos y nutrientes necesarios para estimular el desarrollo del rumen. Es importante asegurar que se cumplen los requisitos de nutrientes para el mantenimiento, crecimiento y desarrollo del rumen dentro de los límites de la capacidad de consumo de los terneros.

Podemos concluir que las ganancias conseguidas en la primera lactancia al aumentar la ADG de la novilla pre-destete son pequeñas y tienen una baja relación con los índices de alimentación, explicando menos del 3% de la variación en la producción de leche de la primera lactancia. La gestión de la genética, la salud, y de la granja y todo lo demás que sucede a la ternera desde su nacimiento hasta su primera lactancia, además del ADG antes del destete, resultará en el 97% de la producción de leche real que observamos. Segundo, podemos concluir que cualquier mejora en el ADG que queramos lograr en terneras pre-destete es mucho más barata al añadir un iniciador para terneras a un programa razonable de leche o sustituto de la leche para terneros.

En el periodo que va desde los 6 meses hasta el parto a una edad aproximada de dos años, las vaquillas lecheras crecen a un ritmo muy rápido. El crecimiento de las novillas lecheras comienza principalmente como el crecimiento del músculo y el esqueleto, pero después de la pubertad, esta tasa de crecimiento se ralentiza a medida que una mayor cantidad de grasa comienza a depositarse como parte del crecimiento de los animales. La tasa de crecimiento debería ser óptima para proporcionar al rebaño un reemplazo de novillas que estén en buen estado de salud, que tienen buena genética para una productividad óptima, que puedan parir con normalidad y que muestren un buen desempeño productivo y longevidad.

Tabla 1. Resumen de los estudios incluidos en el meta-análisis de la alimentación de los terneros y los niveles de producción de la primera lactancia

Estudio	Comparación	Efecto sobre la producción de leche de la primera lactancia[1]
Castells *et al.*, 2015	Substituto de leche (replacer) con vs sin suplementación de heno de avena	Ninguna diferencia
Kiezebrink *et al.*, 2015	Leche materna entera 4 L/d vs 8 L/d	Ninguna diferencia
Margerison *et al.*, 2013	Leche entera, 4 L/d vs leche entera (4 L/d) con suplemento de carbohidratos vegetales vs leche entera (4 L/d) con suplemento de carbohidratos vegetales y aminoácidos	Mayor en animales suplementados
Davis Rinker *et al.*, 2011	Tasa de alimentación de sustituto de leche (replacer) alto vs. bajo.	Ninguna diferencia
Moallem *et al.*, 2010	Substituto de leche (replacer) convencional versus leche entera	Mayor en los animales alimentados con leche entera
Morrison *et al.*, 2009[2]	5 L/d vs 10 L/d de substituto de leche (replacer)	Ninguna diferencia
Raeth-Knight *et al.*, 2009	Substituto de leche (replacer) convencional vs diversos programas de alimentación intensiva	Ninguna diferencia
Terré *et al.*, 2009	Tasa de alimentación de sustituto de leche (replacer) alto vs. bajo.	Ninguna diferencia

Shamay *et al.*, 2005	Substituto de leche (replacer) convencional versus leche entera	Ninguna diferencia

[1] Efectos de tratamiento declaradas en $P < 0,05$.

[2] Morrison *et al.*, 2009 también comparó el substituto de leche (replacer) de alto y bajo contenido de proteína; sin embargo, esta comparación no se incluyó en el análisis actual.

Tabla 2. Efecto de la tasa de crecimiento previo al destete (preweaning) sobre la energía metabolizable (ME) durante el período preweaning y la producción estimada de leche en la primera lactancia

	Tasa de Crecimiento Preweaning (lb/d)				
	1,1	**1,3**	**1,5**	**1,8**	**2,0**
Peso al nacimiento (lbs).	99	99	99	99	99
Peso al destete (weaning) (lbs).	161	173	185	198	210
Peso corporal promedio antes del destete (preweaning) (lbs)	130	136	142	148	154
Necesidades ME pare el crecimiento					
Diario (Mcal/d)	1,55	1,97	2,40	2,87	3,35
Total 8 semanas (Mcal)	87,07	110,17	134,65	160,45	187,50
Necesidad ME Total					
Diario (Mcal/d)	3,68	4,17	4,68	5,22	5,77
Total 8 semanas (Mcal)	206,3	233,6	262,3	292,2	323,3
Estimado a 1ª lactancia 305-d producción leche (lbs)	26.581	26.599	26.638	26.701	26.786

BIBLIOGRAFÍA

- Baldwin, R. L., VI, K. R. Mcleod, J. L. Klotz, and R. N. Heitmann. 2004. Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. Journal of Dairy Science 87(13_suppl):E55-E65.
- Bar-Peled, U., B. Robinzon, E. Maltz, H. Tagari, Y. Folman, I. Bruckental, H. Voet, H. Gacitua, and A. R. Lehrer. 1997. Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. J. Dairy Sci. 80:2523-2528.
- Brody, S. 1945. Bioenergetics and Growth. Waverly Press, Baltimore, MD.
- Donkin, S. S. and L. E. Armentano. 1995. Insulin and glucagon regulation of gluconeogenesis in preruminating and ruminating bovine. J Anim Sci 73(2):546-551.
- Fisher, L. J., J. W. Hall, and S. E. Jones. 1983. Weight and age at calving and weight change related to first lactation milk yield. J. Dairy Sci 66:2167-2172.
- Gelsinger, S. L., A. J. Heinrichs, and C. M. Jones. 2016. A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance. J Dairy Sci 99(8):6206-6214.
- Gorka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, and R. Zabielski. 2011. Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development? J Dairy Sci 94(6):3002-3013.
- Heinrichs, A. J. and B. S. Heinrichs. 2011. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. J Dairy Sci 94(1):336-341.
- Keown, J. F. and R. W. Everett. 1986. Effect of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. J. Dairy Sci 69:1891-1896.
- Place, N. T., A. J. Heinrichs, and H. N. Erb. 1998. The effects of disease, management, and nutrition on average daily gain of dairy heifers from birth to four months. J Dairy Sci 81(4):1004-1009.
- Soberon, F., E. Raffrenato, R. W. Everett, and M. E. Van Amburgh. 2012. Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. J. Dairy Sci. 95:783-793.
- Tucker, H. A. 1987. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: A review. J. Dairy Sci 70:1958-1966.
- Van De Stroet, D. L., J. A. Calderon Diaz, K. J. Stalder, A. J. Heinrichs, and C. D. Dechow. 2016. Association of calf growth traits with production characteristics in dairy cattle. J Dairy Sci 99(10):8347-8355.
- Zanton, G. I. and A. J. Heinrichs. 2005. Meta-analysis to assess effect of prepubertal average daily gain of Holstein heifers on first-lactation production. Journal of Dairy Science 88(11):3860-3867.

ENGLISH VERSION

The impact of early life nutrition, management, and growth

On future production

J. Heinrichs and S. L. Gelsinger

Animal Science Department, The Pennsylvania State University

Dairy heifers represent a large expense of resources including feed, buildings, and labor; yet return no money to the dairy farm until they calve. Thus, our overall objective must be to minimize costs while maximizing the returns on those costs incurred. Our overall management of these heifers must be handled in a manner that yields the best quality heifer, with the highest potential to be productive, profitable, with a minimal cost to the farm and the environment.

Feeding the dairy calf and heifer can be difficult as we want to feed the heifers as much as possible to get rapid growth so that they begin lactating early in life, with a large body size at calving relative to their mature weight. However, there are issues related to rapid growth and a high level of feed intake that can go against the benefits and economics of such practices.

As we look at dairy replacement growth, we know that the dairy heifer grows at its fastest rates in terms of body weight and skeletal growth, from birth to puberty Brody (1945). Under many of today's Holstein heifers, this runs up to 8-10 months of age. At puberty growth rates tend to decline on a percentage basis, and the growth goes from predominately muscle and skeletal tissues to more having some more fat being accumulated (Brody, 1945).

The mammary gland also develops at a rapid rate during puberty and can be affected by animal growth rates during this

time period (Tucker, 1987). Growth in this period of weaning to puberty has been extensively studied and a meta-analysis has shown that the optimal ADG to grow a pre-pubertal heifer has been shown to be about 1.75 lbs/d (800 g/d; (Zanton and Heinrichs, 2005). There is clearly a range of near-optimal ADG for this age heifer and it allows a dairy farmer to raise heifers from 1.7 to 1.9 lbs/d with no appreciable losses in potential production.

Once puberty is reached, multiple data sets show that ADG does not affect milk production, as long as body weight (BW) meets the goal of approximately 85 to 90% of mature BW and we recommend 95% of mature stature. While data are less recent and discerning on this topic, there are supporting studies that show this effect (Fisher *et al.*, 1983, Keown and Everett, 1986).

The digestive system of the calf is also maturing during the pre-weaning period as the calf is maturing from a monogastric to ruminant animal. The most notable of changes in principal metabolic processes during ruminal development is the shift from a glycolytic to glucogenic liver (Baldwin *et al.*, 2004). As the rumen begins to develop and microbial fermentation increases, less carbohydrate is available for postruminal digestion and the dietary supply of glucose diminishes. Research has shown that there is a substantially reduced rate of gluconeogenesis from lactate in ruminating calf liver cells and data show a large decrease in the capacity to metabolize lactate to glucose as calves undergo rumen development (Baldwin *et al.*, 2004). This transition results in tremendous metabolic ramifications to calf growth rate, as tissues must convert from reliance on glucose supplied from milk to the metabolism of short-chain fatty acids as primary energy substrates. Studies show that calves can effectively use propionate for glucose synthesis in the liver starting in early life (Donkin and Armentano, 1995). Once the rumen is developed, the calf can be an efficient digesting animal of less costly starch and fiber based feedstuffs. While the most dramatic physical changes occurring during development are associated with the rumen epithelium, changes in intestinal mass and metabolism are also happening in response to dietary changes. In addition it has been also been shown that butyrate, the end product of rumen digestion of starch, improves the development of small intestinal absorptive tissue (Gorka *et al.*, 2011). The shift to a rumen-based digestion is important to commence early in life, and once it begins it needs to be developed at a reasonable rate to ensure efficient digestion and utilization of feedstuffs.

In studying calf average daily gain as it relates to economics and production capability. Looking classically at what affects calf ADG, we know that it is dry matter intake (liquid feeds, calf starter, and or forage) and health (covering many issues that may affect the calf); (Place *et al.*, 1998). A longitudinal calf growth study following heifers on 21 commercial farms from birth through multiple lactations (Heinrichs and Heinrichs, 2011) showed that a large significant calf related factor that positively affected first lactation milk production was dry matter intake at weaning. This was followed by calf health, as an important factor having a negative effect on future milk production.

In a recent study looking at calf growth data across various calf nutrition experiments, the results suggest that pre-weaning growth rate is an important consideration pertaining to future milk yield (Van De Stroet *et al*, JDS 2016). In this analysis, calf starter was the primary variable of differences in nutrient intake, since milk replacer was constant between the studies compared. This analysis showed that heifers of smaller size stature as calves produced less milk in their first lactation after accounting for BW differences in the first lactation cows. Cows from the medium BW groups as calves, produce more milk in early lactation than cows from the high BW animals as calves, after accounting for differences in height. Calves that grew more quickly, ate more, and weighed more were heavier as first-lactation cows and as mature cows. Calves that were the shortest stature had the lowest milk production potential and were the least likely to remain in the herd until first lactation. Pre-weaning ADG may be indicative of metabolic efficiency; therefore, it is possible that metabolically efficient calves continue to be metabolically efficient as adults (Van De Stroet *et al.*, 2016).

Feeding rate or nutrient intake amounts have also been indicated as factor that may influence first lactation milk production. In the past 5 or more years, there has been a trend for feeding more milk or milk replacer due to accounts that this practice not only supplies more nutrients needed for rapid growth, but also may allow the animal to produce more milk in their first lactation. Multiple studies have been done addressing this question. A recent meta-analysis (Gelsinger *et al.*, 2016) shows results from all of the peer-reviewed published research of the past 20 years that measured the effect of milk or milk replacer intake, calf starter intake, and average dairy gain before weaning on milk production from those calves in their first lactation (Table 1). As are explained in the Journal of Dairy Science paper, two published papers were not used in the analysis. First, the study by Bar-Peled *et al*, (1997) was not used as treatments were completely confounded and no valid conclusions can be made from that paper or data used to compare treatments. Second, the paper by Soberon *et al.*, (2012) was not used as all calves were fed for high rates of gain at all one level (no control comparison), yet two different fat levels were used in the milk replacers with no accounting for which calves had which feed. There were no grain intakes recorded and no variation of the data noted (standard error or standard deviation) to allow use of the data. The results however were quite similar to the final meta-analysis study regardless.

While individual papers generally concluded that there was no effect, combining the nine papers used in a meta-analysis reveals some additional important information. While these results are significant, it is important that we note their overall level, as factors affecting production are small. The calf-feeding program in general accounted for less than 3% of the variation in first-lactation milk yield within the combination of these studies. Many factors can affect the health and growth of heifers and their performance in the milking herd. Regardless, feeding program did have some impact, and the importance of feeding starter along with milk or milk replacer was evident. Increasing dry matter intake from milk or milk replacer by 100 g/d resulted in 66 kg more milk in the first lactation. The same increase in milk or milk replacer resulted in 139 kg more milk when combined with 100 gm/day of calf starter. These results emphasize the importance of providing readily available energy and protein in a liquid di*et al*ongside a fermentable solid diet that can provide the end products and nutrients necessary to stimulate rumen development. It is important to ensure nutrient requirements for maintenance, growth, and rumen development are met within the confines of calves' intake capacity.

We can conclude that the gains in first lactation accomplished by increasing calf ADG pre-weaning are small and have a low relationship with feeding rates, explaining less than 3% of the variation in first-lactation milk production. Genetics, health, farm management and everything else that happens to that calf from birth to first lactation other than ADG before weaning, will

account for 97% of the actual milk production that we observe. Second we can conclude that any improved ADG that we want to accomplish in pre-weaned calves is far cheaper to do with calf starter added to a reasonable calf milk/milk replacer program.

In the period from 6 months to calving at about 2 years age, the dairy heifer grows at a very rapid rate. Growth of the dairy heifer begins primarily as muscle and skeletal growth but after puberty this growth rate slows as a higher amount of fat begins to be deposited as part of that animal growth. The growth rate should be optimal in order to provide the herd with replacement heifers which are in good health, which have good genetic make-up for optimal productivity, which can calve normally, which show good reproductive performance afterwards, and which will show good longevity.

Table 1. Summary of studies included in the meta-analysis of young calf feeding levels and first lactation production

Study	Comparison	Effect on first-lactation milk production[1]
Castells *et al.*, 2015	Milk replacer with vs without oat hay supplementation	No difference
Kiezebrink *et al.*, 2015	Whole milk feeding at 4 L/d vs 8 L/d	No difference
Margerison *et al.*, 2013	Whole milk only at 4 L/d vs whole milk (4 L/d) with supplemental plant carbohydrates vs whole milk (4 L/d) with supplemental plant carbohydrates and amino acids	Greater in supplemented animals
Davis Rinker *et al.*, 2011	Low vs high milk replacer feeding rate	No difference
Moallem *et al.*, 2010	Conventional milk replacer vs whole milk	Greater in animals fed whole milk
Morrison *et al.*, 2009[2]	5 L/d vs 10 L/d of milk replacer	No difference
Raeth-Knight *et al.*, 2009	Conventional milk replacer vs various intensive feeding programs	No difference
Terré *et al.*, 2009	Low vs high milk replacer feeding rate	No difference
Shamay *et al.*, 2005	Conventional milk replacer vs whole milk	No difference

[1] Treatment effects declared at $P < 0.05$.

[2] Morrison *et al.*, 2009 also compared high and low milk replacer protein content; however, this comparison was not included in the current analysis.

Table 2. Effect of preweaning growth rate on metabolizable energy (ME) requirement during the preweaning period and predicted milk yield in first lactation

	Preweaning Growth Rate (lb/d)				
	1.1	**1.3**	**1.5**	**1.8**	**2.0**
Birth weight (lbs)	99	99	99	99	99
Weaning weight (lbs)	161	173	185	198	210
Average preweaning body weight (lbs)	130	136	142	148	154
ME requirement for growth					
Daily (Mcal/d)	1.55	1.97	2.40	2.87	3.35
Total for 8 weeks (Mcal)	87.07	110.17	134.65	160.45	187.50
Total ME requirement					
Daily (Mcal/d)	3.68	4.17	4.68	5.22	5.77
Total for 8 weeks (Mcal)	206.3	233.6	262.3	292.2	323.3
Estimated 1st lactation 305-d milk yield (lbs)	26,581	26,599	26,638	26,701	26,786

REFERENCES

- Baldwin, R. L., VI, K. R. Mcleod, J. L. Klotz, and R. N. Heitmann. 2004. Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. Journal of Dairy Science 87(13_suppl):E55-E65.
- Bar-Peled, U., B. Robinzon, E. Maltz, H. Tagari, Y. Folman, I. Bruckental, H. Voet, H. Gacitua, and A. R. Lehrer. 1997. Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. J. Dairy Sci. 80:2523-2528.
- Brody, S. 1945. Bioenergetics and Growth. Waverly Press, Baltimore, MD.
- Donkin, S. S. and L. E. Armentano. 1995. Insulin and glucagon regulation of gluconeogenesis in preruminating and ruminating bovine. J Anim Sci 73(2):546-551.
- Fisher, L. J., J. W. Hall, and S. E. Jones. 1983. Weight and age at calving and weight change related to first lactation milk yield. J. Dairy Sci 66:2167-2172.
- Gelsinger, S. L., A. J. Heinrichs, and C. M. Jones. 2016. A meta-analysis of the effects of preweaned calf nutrition and growth on first-lactation performance. J Dairy Sci 99(8):6206-6214.
- Gorka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, and R. Zabielski. 2011. Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development? J Dairy Sci 94(6):3002-3013.
- Heinrichs, A. J. and B. S. Heinrichs. 2011. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. J Dairy Sci 94(1):336-341.
- Keown, J. F. and R. W. Everett. 1986. Effect of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. J. Dairy Sci 69:1891-1896.
- Place, N. T., A. J. Heinrichs, and H. N. Erb. 1998. The effects of disease, management, and nutrition on average daily gain of dairy heifers from birth to four months. J Dairy Sci 81(4):1004-1009.
- Soberon, F., E. Raffrenato, R. W. Everett, and M. E. Van Amburgh. 2012. Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. J. Dairy Sci. 95:783-793.
- Tucker, H. A. 1987. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: A review. J. Dairy Sci 70:1958-1966.
- Van De Stroet, D. L., J. A. Calderon Diaz, K. J. Stalder, A. J. Heinrichs, and C. D. Dechow. 2016. Association of calf growth traits with production characteristics in dairy cattle. J Dairy Sci 99(10):8347-8355.
- Zanton, G. I. and A. J. Heinrichs. 2005. Meta-analysis to assess effect of prepubertal average daily gain of Holstein heifers on first-lactation production. Journal of Dairy Science 88(11):3860-3867.

MEJORAR LA PRECISIÓN NUTRICIONAL Y ECONOMÍA MEDIANTE LA ESTRATEGIA DE AGRUPACIÓN DE RACIONES MÚLTIPLES

Jorge A Barrientos, Randy D. Shaver, Víctor Cabrera, y Di Liang

Departamento de Ciencia de lácteos, Universidad de Wisconsin-Madison

El objetivo de esta investigación fue evaluar la aplicación de la estrategia de agrupamiento nutricional (NGS) para mejorar la precisión y reducir los costes de la alimentación de las vacas lactantes 148±65 DIM. Se utilizó una granja lechera comercial de 2500-vacas lecheras de Wisconsin para el estudio. Se Utilizaron ochenta y cuatro días (el 1 de Junio - Agosto 22, 2017) de datos, incluidas las distintas actuaciones productivas y reproductivas de la vaca, para simular NGS. Tres establos (476 vacas) total de vacas multíparas actualmente agrupados en 3 establos indiscriminadamente, se reagruparon usando el algoritmo k-medias basado en los requisitos de su energía neta (NE) y proteína metabolizable (MP). Se desarrolló una ecuación para calcular un índice de exactitud de la dieta (DAI = | [dieta nutrientes establo / DMI] - [El Requisito nutriente requerido / DMI]|) para evaluar y comparar la precisión nutricional de la alimentación de las vacas agrupadas por NGS contra la estrategia de agrupamiento de granja (FGS). Cuanto menor sea el valor de los DAI, más precisa será la dieta. Se utilizó el Mínimo Algoritmo de mínimos cuadrados (L2 - Norma) para calcular los requisitos más representativos de NE y MP por establo de NGS. Estos requisitos de valores NE y MP donde fueron utilizados para formular dietas con la misma receta y con igual o menor coste que la dieta actual de la granja. Se compararon los resultados de las granjas a las que se había suministrado NE, MP en las dietas, DAI y el coste por establo en la granja, utilizando NGS. Los resultados de la simulación sugieren que NGS y necesidades nutricionales se ajusten en las dietas para aumentar la precisión de NE y MP en la dieta. Los valores del índice de precisión de la dieta fueron menores para NGS tanto en NE y MP. La dieta N fue menor para los NGS de FGS y mejoró el porcentaje de la eficiencia N de leche (MNE). El coste total de 84 días de alimentación vacas en lactación usando FGS fue de $307,667, mientras que los ahorros del coste de la dieta fueron $302,384 para NGS; $5,283. Aplicación de NGS en grupos de vacas en lactación tiene el potencial de aumentar la precisión nutricional de las dietas y los ahorros mediante la reducción de los costes de la dieta.

Palabras clave: Los costes de alimentación, dieta, nutrición agrupación índice de precisión

INTRODUCCIÓN

La creciente volatilidad de los precios de los piensos y la leche están desafiando el negocio de la granja lechera. Desde el punto de vista de la nutrición, la agrupación de las vacas en grupos con necesidades nutricionales más homogéneos, para alimentar las vacas con mayor precisión nutricional, es una posible estrategia para mitigar los problemas económicos que enfrentaban las explotaciones lecheras. Varios autores han demostrado que esta estrategia de agrupamiento nutricional puede generar beneficios económicos y productivos en las explotaciones lecheras (Coppock 1977, McGilliard 1983, Pecsok, *et al.* 1992, Williams and Oltenacu 1992, Stallings 2011, Cabrera, *et al.* 2012, Kalantari, *et al.* 2016). A pesar de agrupar las vacas por su edad, estado reproductivo, y de salud es una práctica común en las explotaciones lecheras, no se ha sido ampliamente adoptada una estrategia de agrupamiento nutricional en las explotaciones lecheras, debido a las implicaciones de la gestión (Contreras-Govea *et al.*, 2014). Sin embargo, los posibles beneficios económicos y productivos de la estrategia de agrupación nutricional, las tecnologías disponibles de recopilación de datos, los sistemas de alimentación y prácticas de agrupamiento de vacas utilizada en las explotaciones lecheras, abre la posibilidad de desarrollar un modelo que facilita la implementación de la estrategia de agrupamiento nutricional sin cambios significativos en la administración de la granja ((Cabrera, *et al.* 2012, Cabrera y Kalantari, 2016; Kalantari, *et al.* 2016). El objetivo de este estudio fue evaluar la aplicación de la estrategia de agrupamiento nutricional (NGS) para mejorar la precisión nutricional y reducir los costes de alimentación de vacas en lactación en una granja comercial durante la lactancia temprana (148±65 DIM).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este proyecto de investigación se realiza siguiendo tres pasos principales, el análisis descriptivo de la gestión de la granja sobre la alimentación de vaca y agrupación, el desarrollo del modelo prescriptivo para implementar la estrategia de agrupamiento de nutrición y el análisis comparativo de la nutrición y economía. El análisis estad**ístico y la elaboración de modelos se realizó en el entorno del lenguaje de programación R studio®**.

Análisis descriptivo de gestión agrícola

La comprensión de la gestión de la alimentación de la vaca y su agrupación en una granja lechera es un paso crucial en el desarrollo de una herramienta de estrategia de agrupamiento de nutrición. El análisis descriptivo del sistema de granja fue realizado en tres pasos, recopilación de datos, la comprensión de la actual estrategia de gestión de la agrupación de vaca, y la analítica descriptiva.

Se recopilaron datos de diario comercial a gran escala de una granja lechera de 2500 vacas Holstein lactantes ubicado en Wisconsin. Se descargó un conjunto de datos de 84-días (el 1 de Junio - Agosto 22, 2017) que incluía las distintas actuaciones productivas y reproductivas de la vaca, se descargó de Dairy comp 305 (DC305), Feed Watch, Smart Dairy y software de NDS. Para calcular parámetros de las necesidades diarias de nutrición por vaca se fusionaron los cuarto conjuntos de datos utilizando la función de combinación de R studio.

Actualmente, el administrador de la granja agrupa las vacas basándose en los días en leche (DIM), el estado de salud y el número de lactancias. Una descripción de los distintos establos de vacas en lactación en la granja se encuentra en la Tabla 1. Se cambian las vacas a distintas establos cada semana los martes durante el turno de noche. La clasificación de las vacas se realiza

mediante la instalación de una orden automática, donde un sensor reconoce el collar de identificación la vaca. La decisión de mover las vacas se realiza semanalmente y es introducida manualmente en el software DC305 por el administrador de la finca. Si hay un error en la lista de movimiento o hecho por el sensor de clasificación, los empleados tienen que desplazar la vaca manualmente.

Tabla 1. Perfil PEN´s de diferentes granjas de vacas lecheras.

Número de PENs	Perfil de vaca lactante	Días en leche
5	Multíparas, el final de la lactancia	250-360
4	Vacas en primera lactancia	70-320
4	Multíparas, lactancia temprana	50-250
1	Fresco Primera lactancia	2-70
3	Fresco, multíparas	2-50
3	Hospital	—
1	Maternidad	0-2

Para simular la aplicación de la estrategia de agrupamiento nutricional, un grupo de 476 vacas multíparas en lactancia temprana (148±65 DIM) fue seleccionado. Este grupo de vacas es asignado actualmente a tres establos indiscriminadamente. Resumen estadístico de grupos analizados de la vaca lactante se encuentra en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen estadístico de establos vacas en lactancia temprana multíparas.

	Vacas en lactancia temprana multíparas		
Variable	PEN1	PEN2	PEN3
Número de vacas/ Establo	148±2.3	147±2.9	149±2.1
Lactancia (n)	2.8±0.96	2.8±0.99	2.9±1.14
DIM (días)	138.7±53.4	143.2±60.9	147.6±65.2
Intervalo de cría (días)	394.3±55.0	401.1±69.5	399.5±60.1
Producción de leche (Kh/día)	51.0±7.0	51.8±7.3	51.7±7.0
Grasa (%)	3.86±0.81	3.78±0.80	3.80±0.74
Proteína cruda (%)	2.97±0.24	2.95±0.26	2.92±0.23
Peso del cuerpo (Kg)	718.7±6.9	719.3±7.9	719.9±8.4
DMI(Kg/día)	30.1±2.9	29.7±1.5	30.3±1.3

Desarrollo de un modelo prescriptivo

Un modelo matemático desarrollado en R Studio® para calcular los requerimientos nutricionales deterministas de la vaca, vacas agrupadas en corrales basándose en la proteína metabolizable de vaca (MP) y los requisitos de la energía neta (NE), y para la formulación de la dieta.

Parámetros deterministas

Los parámetros nutricionales deterministas se calcularon utilizando las fórmulas NRC (2001). Los parámetros nutricionales, el consumo de materia seca (DMI) en kilogramos por día, NE (Mcal/kg; Mcal/día) y MP (g/día) se calcula en función del peso corporal (BW), la producción de leche y componentes, la grasa de leche corregida (FCM) y DIM. Debido a los datos limitados el peso corporal individual de la vaca BW fue simulado de acuerdo a la información disponible y las funciones predefinidas siguientes Kalantari *et al.* (2016).

Consumo de materia seca: El DMI diaria por vaca fue calculado como una función de BW, FCM y semana de lactancia (WOL;el NRC, 2001), y ajustado con los registros DMI de la granja.

$$DMI_i\left(\frac{kg}{day}\right) = \left(0.372 \times FCM_i + 0.0986 \times BW_i^{0.75}\right) \times \left(1 - e^{(-0.192\times(WOL+3.67))}\right) \quad [1]$$

$$DMI_{Adjusted}\left(\frac{kg}{day}\right) = \left(\frac{DMI_{Farm,PEN}\left(\frac{kg}{day}\right)}{DMI_{PEN}\left(\frac{kg}{day}\right)}\right) \times DMI_i\left(\frac{kg}{day}\right) \quad [2]$$

Donde, es el DMI calculado por vaca de la ecuación 1, es el registro DMI de la granja que se calcula restando la alimentación negativa de la alimentación proporcionada por establo, y es la media calculada del DMI per PEN (establo).

La energía neta: El requisito de energía neta total (NE) (Mcal/día) se calcula como una función de la energía neta de mantenimiento , la energía neta para la producción de leche , y la energía neta para el crecimiento utilizando las ecuaciones del NRC (2001). La exigencia de concentración NE (Mcal/kg de MS) por vaca se calculó dividiendo NE (Mcal/día) por DMI (kg/día). La concentración NE (Mcal/kg de DM) ofrecida en la dieta actual de la granja se calculó dividiendo el ofrecido NE (Mcal/día) por DMI (kg/día) de granja.

Proteína Metabolizable: El requisito de la proteína metabolizable total neta (MP) se calcula como una función de la MP de mantenimiento , la MP para la producción de leche , y la MP para el crecimiento utilizando las ecuaciones del NRC (2001).

La eficiencia del nitrógeno de la leche: La eficiencia del nitrógeno (MNE) de leche por vaca se calculó dividiendo el total diario de proteína de leche (TMP) producido por el nitrógeno total ofrecido (DOFN) en la dieta.

Índice de precisión de la dieta: Hemos desarrollado el índice de exactitud de la dieta (DAI) para evaluar la exactitud de la nutrición de las dietas. Los DAI contrastan el requisito de nutrientes versus los nutrientes ofrecidos en la dieta y se calcula en términos absolutos los valores positivos.

$$DAI_{PEN} = \sum_{i=1}^{cow}\left(\frac{NE_{DIET,PEN}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\right),$$

$$DAI_{PEN} = \sum_{i=1}^{cow}\left(\frac{MP_{DIET,PEN}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\right), \quad [3]$$

Interpretar DAI: La precisión de la dieta es inversamente proporcional a la magnitud del valor calculado del DAI. Cuanto más cerca este este valor a cero, mejor será la precisión de la dieta. Ya que dado que el DAI por establo es una suma de los valores absolutos, el DAI por establo incluye vacas sobrealimentadas y subalimentadas.

Agrupar las vacas

Agrupar las vacas es una estrategia común entre los granjeros lecheros. Se aplica a las vacas de estabuladas considerado su producción de leche, tiempo de lactancia, la salud, la edad y estado de reproducción. Teniendo en cuenta los mismos factores para agrupar la práctica de las vacas y los requerimientos de parámetros nutricionales, hemos desarrollado una herramienta matemática que ayuda a implementar la estrategia de agrupamiento nutricional en granjas lecheras.

Se desarrolló una sección modelo para agrupar 476 vacas multíparas, en el comienzo de la lactancia (148±65 DIM), en tres establos distintos usando NE (Mcal/kg) y MP (g/kg de DMI) como criterio de agrupación. El objetivo era mejorar la precisión nutricional por PEN sin generar cambios importantes en la estrategia de gestión de la agrupación aplicada por el agricultor.

El paquete K-means de R studio® fue utilizado para agrupar los grupos de vacas en tres diferentes establos, usando los valores normalizados de NE y MP como criterio de agrupación. El algoritmo k-means calculó tres (k=número de PENs) centros diferentes (los datos significan: y) y asignó los valores y más cercanos a cada centro. El algoritmo de agrupación se ejecutaba cada semana los lunes, igual que como se hace usualmente en la granja.

Formulación de la dieta

La determinación de los factores de plomo **óptimo**, NE y MP, que se utilizan en la formulación de la dieta de cada PEN se hizo en dos etapas. Optimizando la precisión nutricional de la dieta y determinando el factor de plomo óptimo dentro de la distribución de requisitos del NE y MP de cada establo.

Optimizando el suministro de nutrientes de la dieta: El NE y MP óptimo para ser consumido por la vaca, se calcula igualando a cero la diferencia del requisito de los nutrientes agregados aportado a un grupo de vacas.

La energía neta:

$$\frac{NE_{DIET}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}} = 0\ ,$$

$$\frac{NE_{DIET}}{DMI_{Farm}} = \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\ ,$$

$$NE_{DIET} = DMI_{Farm,PEN} \times \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\ , \qquad [4]$$

Proteína Metabolizable:

$$\frac{MP_{DIET}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}} = 0\ ,$$

$$\frac{MP_{DIET}}{DMI_{Farm}} = \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\ ,$$

$$MP_{DIET} = DMI_{Farm,PEN} \times \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\ , \qquad [5]$$

Optimización del factor principal: La ecuación de mínimos cuadrados L2-norm del paquete R studio® fue utilizada para minimizar el valor de mínimos cuadrados de cada distribución de requerimientos nutricionales del PEN, que se usó como valor de referencia para encontrar los factores principales para la formulación de la dieta NE y MP.

Formulación de la dieta Las dietas de cada establo fueron formuladas para cada semana utilizando software de NDS. Los valores de entrada para equilibrar las diferentes dietas nutricionales fueron obtenidos a partir del modelo de agrupación. La energía neta, los factores de dirección MP y los resúmenes estadísticos sobre el perfil de las vacas en cada establo de los resultados del modelo de agrupación nutricional, fueron utilizados para rellenar entradas requeridas del software NDS. .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Agrupar las vacas

Una práctica común en esta comunidad es asignar el grupo de 472 vacas indiscriminadamente a tres diferentes establos. Esto explica la distribución similar de MP (g/kg de DM) y NE (Mcal/kg de DM) requisitos de vaca entre establos 1-3 (Figura 1).

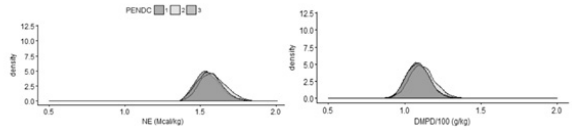


Figura 1. Distribución de la NE (Mcal/kg, izquierda) y MP (g/kg, derecha) requisitos de vaca entre establos 1-3 estrategia de agrupamiento en la granja la actual.

Después de calcular el MP (g/día) y el NE (Mcal/kg de MS) óptimo para cada vaca en el grupo, se dividió el MP (g/día) por para obtener el MP (g/kg de DM) y ambos los valores de nutrientes de la NE y MP se normalizaron y se agruparon en tres grupos utilizando el algoritmo k-means de R. En la figura 2 están los resultados del algoritmo k-means, donde los puntos gris, amarillo y azul son el grupo de vacas con requisitos de NE y MP bajos, medios y altos, respectivamente. Los valores de punto gris fueron asignados al establo 1, los valores de punto amarillo a PEN 2, y valores de punto azul a PEN 3.

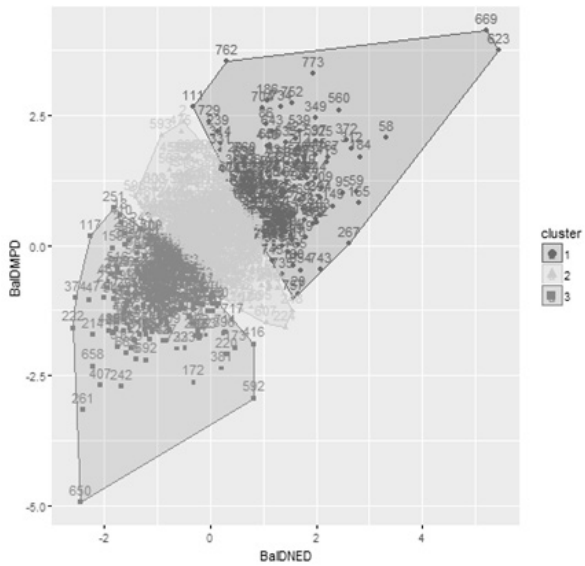


Figura 2. Resultados de parcelas de grupos nutricionales K-means

Una vez que fueron creados los establos por agrupación nutricional, se generó una nueva distribución de NE y MP para cada establo (consulte la Figura 3).

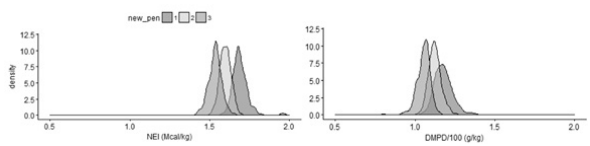


Figura 3. Distribución de la NE (Mcal/kg, izquierda) y MP (g/kg, derecha) requisitos de vaca entre establos 1-3 en estrategia de agrupamiento nutricional.

Se asignó a las vacas unos grupos de requisitos nutricionales homogéneos implementando el algoritmo k-means como herramienta de agrupación nutricional. Por lo tanto, sus dietas tenían mayor precisión nutricional. Los resultados de la Tabla 3 indican una mayor DAI para NE y MP con Pens de agrupación nutricional en comparación a la agrupación actual de granjas. A diferencia de la agrupación de Pens, los valores NE y MP DAI para cada agrupación nutricional Pen se acerca a cero, lo que indica una mayor precisión de las dietas formuladas para estos Pens. La mayor precisión nutricional de las dietas se refleja en

los ajustes de NE y MP suministrados en las dietas para Pens de agrupación nutricional.

Tabla 3. Efecto nutritivo y económico de la granja y la estrategia de agrupamiento nutricional en un grupo de 472 vacas en lactancia temprana multíparas durante 84 días (el 1 de Junio - Agosto 22, 2017).

	Estrategia de agrupamiento de granja (FGS)			Estrategia de agrupamiento nutricional (NGS)			FGS - NGS
Parámetro	PEN1	PEN2	PEN3	PEN1	PEN2	PEN3	Todas las PENs
DMI (kg/ vaca/d)	30.1± 2.92	29.7± 1.48	30.3± 1.28	30.2± 0.98	29.7± 1.18	29.8± 1.13	-0,14
Dieta NE (Mcal/kg)	1,74			1.65± 0.02	1.69± 0.01	1.73± 0.01	-0,05
Dieta MP(g/kg).	120.9± 36.2	119.3± 6.68	116.7± 4.87	110.0± 4.04	110.4± 8.34	113.6± 59	-7,67
Dieta N (g/ vaca/d)	770,3			745.0± 53.4	757.0± 41.1	760.0± 51.6	-16,3
MNE (%)	31.3± 4.11	31.5± 4.22	31.2± 3.98	32.8± 3.09	31.4± 2.79	32.6± 2.74	0,90
DAI NE (Mcal/kg)	0.246± 0.424	0.164± 0.086	0.184± 0.081	0.032± 0.029	0.045± 0.053	0.034± 0.025	-0,16
DAI MP (g/kg).	9.69± 7.24	8.85± 6.27	9.06± 5.83	3.42± 3.15	4.85± 5.19	3.91± 3.11	-5,14
Coste Dieta ($/84 días)	$307,666			$302,383			$5,283

La DMI calculados para establos de agrupación nutricional fue de 0,11 (kg/día) inferior actual DMI de granja. Esta pequeña diferencia se explica por el ajuste del IMD en la ecuación [2]. Los valores MP (g/vaca/día) utilizados como el principal factor para la formulación de las dietas de establos agrupados-nutricionalmente fue limitado por el requisito MP (g/día), para cada establo de vacas agrupadas nutricionalmente. La personalización de dietas para cada establo agrupado-nutricionalmente, con requerimientos nutricionales más homogéneos, resultó en un promedio concentración de dieta menor de MP (7,7 g/kg) en comparación con la actual concentración de MP.

La dieta de mayor precisión en las dietas para la agrupación nutricional genera beneficios ambientales. La reducción de la MP (g/kg de DM) suministrado en la dieta nutricional agrupando los establos resultaron en aporte menor N en la dieta (16,3 g/ vaca/día) como en la Tabla 3. Esto se tradujo en una mayor eficiencia de la leche-N en una unidad de 0.9%.

La disminución en el costo promedio de las dietas nutricionales para establos agrupados resultó en ahorros económicos para la comunidad. Como en la Tabla 3, el costo de alimentar 472 vacas durante 84 días, utilizando la estrategia de agrupamiento nutricional propuesto era de $5,283 menos costoso que la actual estrategia de agrupamiento de granja.

CONCLUSIONES

La estrategia de agrupamiento nutricional mejora la precisión nutricional en la alimentación y genera ahorros de costes. Con NE y MP como criterios para la agrupación nutricional resultó en grupos más homogéneos de vacas en términos de necesidades nutricionales. La agrupación estrategia nutricional aumentó la precisión nutricional de las dietas. El aumento en la precisión nutricional de la dieta dio como resultado una mejor asignación de energía neta y suministro de dieta de proteína metabolizable a los grupos nutricionales. Una mayor precisión del suministro de N por las dietas con agrupamiento nutricional puede disminuir el desecho de N y aumentar la eficiencia del N en la leche en beneficio del medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabrera, V. E, F Contreras, R. D Shaver, and L. E Armentano. 2012. "Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle. Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle." *Four-State Dairy Nutrition and Management Conference.* Dubuque, IA: Wisconsin Agri-business Association, Madison. 40-44.
- Cabrera, V. E., and A. S. Kalantari. 2016. Economics of production efficiency: Nutritional grouping. Journal of Dairy Science 99:825–841.
- Contreras-Govea, F. E, V. E Cabrera, L.E Armentano, R. D Shaver, P. M Crump, D. K Beede, and M. J Vandehaar. 2014. "Constraints for nutritional grouping in Wisconsin and Michigan dairy farms." *Jurnal Dairy Science* 1336-1344. http://dx.doi.org/ 10.3168/jds.2014-8368.
- Coppock, Carl E. 1977. "Feeding Methods and Grouping Systems." *Journal of Dairy Science* 60 (8): 1327-1336. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)84030-7.
- Kalantari, A. S, L. E Armentano, R. D Shaver, and V. E Cabrera. 2016. "Economic impact of nutritional grouping in dairy herds." *Journal Dairy Science* 1672-1692. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9810.
- McGilliard, M. L., J. M. Swisher, and R. E. James. 1983. "Grouping Lactating Cows by Nutritional Requirements for Feeding." *Journal of Dairy Science* 66 (5): 1084-1093. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81905-5.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academies Press, Washington, DC.
- Pecsok, S.R, M.L McGilliard, R.E James, T.G Johnson, and J.B Holter. 1992. "Estimating Production Benefits Through Simulation of Group and Individual Feeding of Dairy Cows." *Journal of Dairy Science* 75 (6): 1604-1615. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77917-X.
- Stallings, Charles C. 2011. "Feeding Cows with Increasing Feed Prices: Efficiencies, Feed Options, and Quality Control." *Proceedings 47th Florida Dairy Production.* Gainesville. 40-45. http://dairy.ifas.ufl.edu/dpc/2011/Stallings.pdf.
- Williams, C.B, and P.A Oltenacu. 1992. "Evaluation of Criteria Used to Group Lactating Cows Using a Dairy Production Model." *Journal of Dairy Science* 75 (1): 155-160. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77749-2.

ENGLISH VERSION

Improving nutritional accuracy and economics through multiple ration-grouping strategy

Jorge A Barrientos, Randy D. Shaver, Victor Cabrera, and Di Liang

Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI

Study objective was to evaluate implementation of nutritional grouping strategy (NGS) to improve nutritional accuracy and reduce feed costs for lactating cows 148±65 DIM. A 2,500-cow Wisconsin commercial dairy farm was used for the study. Eighty-four days (June 1st - August 22nd, 2017) of data, including individual cow reproductive and productive performances,

were used to simulate NGS. Three pens (476 cows total) of multiparous cows currently grouped in 3 pens indiscriminately, were regrouped using k-means algorithm based on their net energy (NE) and metabolizable protein (MP) requirements. An equation was developed to calculate a diet accuracy index (DAI = |[Diet nutrient / PENs DMI] – [Nutrient requirement / Required DMI]|) to assess and compare nutritional accuracy of feeding cows clustered by NGS against the farm grouping strategy (FGS). The lower the DAI value, the more accurate the diet. Minimum least squares algorithm (L2 - norm) was used to calculate the most representative NE and MP requirements per pen from NGS. These NE and MP requirement values where utilized to formulate diets using the same recipe and equal or lower cost than the current farm diet. Supplied NE, MP by the diets, DAI and cost per pen at the farm, were compared with the simulated pens using NGS. Results from the simulation suggest that NGS and nutritional requirements adjustments in pen diets increase NE and MP diet accuracy. Diet accuracy index values were lower for NGS in both NE and MP. The N diet supply was lower for NGS than FGS and improved the milk N efficiency (MNE) percentage. Total cost of 84 days of feeding lactating cows using FGS was $307,667, whereas it was $302,384 for NGS; $5,283 diet cost savings. Implementing NGS in groups of lactating cows has potential to increase nutritional accuracy of diets and savings through decreased diet costs.

Key Words: Feeding costs, diet accuracy index, nutritional grouping

INTRODUCTION

The increasing volatility of milk and feed prices are challenging the dairy farm business. From the nutrition stand point, clustering cows in groups with more homogeneous nutritional requirements, for feeding diets with higher nutritional accuracy, is a potential strategy to mitigate the economic challenges faced by dairy farms. Several authors have shown that this nutritional grouping strategy may generate productive and economic benefits in dairy farms (Coppock 1977, McGilliard 1983, Pecsok, *et al.* 1992, Williams and Oltenacu 1992, Stallings 2011, Cabrera, *et al.* 2012, Kalantari, *et al.* 2016). Even though grouping cows by their age, reproductive, and health status is a common practice in dairy farms, a nutritional grouping strategy has not been widely adopted in dairy farms because of management implications (Contreras-Govea *et al.*, 2014). Nevertheless, potential productive and economic benefits of nutritional grouping strategy, available data collection technologies, feeding systems and cow grouping practices used in dairy farms, open the possibility of developing a model that facilitates the implementation of nutritional grouping strategy without significant changes in the farm management ((Cabrera, *et al.* 2012, Cabrera and Kalantari, 2016; Kalantari, *et al.* 2016). The objective of this study was to evaluate the implementation of nutritional grouping strategy (NGS) to improve nutritional accuracy and reduce feed costs for early lactation (148±65 DIM) lactating cows in a commercial dairy farm.

MATERIALS AND METHODS

This research project was performed following three main steps, descriptive analysis of the farm feeding and cow grouping management, prescriptive model development for implementing nutritional grouping strategy, and nutrition and economics comparative analysis. Statistical analysis and model development was made in the programming language environment R studio®.

Farm management descriptive analysis

Understanding the feeding management and cow grouping in a dairy farm is a crucial step in developing a tool for nutritional grouping strategy. The descriptive analysis of the farm system was made in three steps, data collection, understanding of the current cow grouping management strategy, and descriptive analytics.

Daily data was collected from a large-scale commercial dairy farm of 2500 lactating Holstein cows located in Wisconsin. An 84-day (June 1st - August 22nd, 2017) dataset, including individual cow reproductive and productive performances, was downloaded from Dairy Comp 305 (DC305), Feed Watch, Smart Dairy, and NDS software. To calculate the daily nutritional requirement parameters per cow the fourth data sets were merged using the merge function of R studio.

Currently the farm manager groups cows based on days in milk (DIM), health status and number of lactations. A description of the different pens of lactating cows in the farm is in Table 1. Moving cows to different pens is done every week on Tuesdays during the night shift. Sorting cows is done by automatic sorting facility where a sensor recognizes the cow identification collar. The decision of which cows are going to be moved weekly is made and entered manually in the DC305 software by the farm manager. If there is an error within the moving list or made by the sorting sensor, the employees have to move the cow manually.

Table 1. Cow's profile of the different dairy farm PENs.

Number of PENs	Lactating cow profile	Days in milk
5	Multiparous, Late lactation	250-360
4	First lactation cows	70-320
4	Multiparous, early lactation	50-250
1	Fresh, first lactation	2-70
3	Fresh, multiparous	2-50
3	Hospital	—
1	Maternity	0-2

For simulating the implementation of nutritional grouping strategy, a group of 476 multiparous cows in early lactation (148±65 DIM) was selected. This group of cows is currently assigned to three pens indiscriminately. Statistical summary of the analyzed lactating cow groups is in Table 2.

Table 2. Statistical summary of multiparous early lactation cow Pens.

	Multiparous early lactation cows		
Variable	PEN1	PEN2	PEN3
Number of cows/PEN	148±2.3	147±2.9	149±2.1
Lactation (n)	2.8±0.96	2.8±0.99	2.9±1.14
DIM (days)	138.7±53.4	143.2±60.9	147.6±65.2
Calving interval (days)	394.3±55.0	401.1±69.5	399.5±60.1
Milk yield (kg/day)	51.0±7.0	51.8±7.3	51.7±7.0
Fat (%)	3.86±0.81	3.78±0.80	3.80±0.74
Crude protein (%)	2.97±0.24	2.95±0.26	2.92±0.23
Body weight (kg)	718.7±6.9	719.3±7.9	719.9±8.4
DMI (kg/day)	30.1±2.9	29.7±1.5	30.3±1.3

Prescriptive model development

A mathematical model was developed in R studio® to calculate

the deterministic nutritional cow requirements, cluster cows in pens based on the cow's metabolizable protein (MP) and net energy (NE) requirements, and for diet formulation.

Deterministic Parameters

Deterministic nutritional parameters were calculated using the NRC (2001) formulas. The nutritional parameters, dry matter intake (DMI) in kilograms per day, NE (Mcal/kg; Mcal/day), and MP (g/day) were calculated as a function of body weight (BW), milk yield and components, fat corrected milk (FCM) and DIM. Because of limited body weight data, individual cow BW was simulated according to available information and pre-defined functions following Kalantari *et al.* (2016).

Dry matter intake: The daily DMI per cow was calculated as a function of BW, FCM and week of lactation (WOL;NRC, 2001), and adjusted with the DMI records from the farm.

$$DMI_i\left(\frac{kg}{day}\right) = \left(0.372 \times FCM_i + 0.0986 \times BW_i^{0.75}\right) \times \left(1 - e^{(-0.192 \times (WOL+3.67))}\right) \quad [1]$$

$$DMI_{Adjusted}\left(\frac{kg}{day}\right) = \left(\frac{DMI_{Farm,PEN}(\frac{kg}{day})}{DMI_{PEN}(\frac{kg}{day})}\right) \times DMI_i\left(\frac{kg}{day}\right) \quad [2]$$

Where, is the calculated DMI per cow from Equation 1, is the DMI record from the farm calculated by subtracting the feed refusal from the provided feed per pen, and is the average of the calculated DMI per PEN.

Net energy: Total net energy (NE) (Mcal/day) requirement was calculated as a function of net energy for maintenance , net energy for milk production , and net energy for growth using equations from NRC (2001). The NE concentration requirement (Mcal/kg of DM) per cow was calculated by dividing NE (Mcal/day) by DMI (kg/day). The NE (Mcal/kg of DM) concentration offered in the current diet of the farm was calculated by dividing the offered NE (Mcal/day) by FarmDMI (kg/day).

Metabolizable protein: Total metabolizable protein (MP) requirement was calculated as a function of MP for maintenance , MP for milk production , and MP for growth using equations from NRC (2001).

Milk nitrogen efficiency: Milk nitrogen efficiency (MNE) per cow was calculated by dividing the daily total milk protein (TMP) produced by the total nitrogen offered (DOFN) in the diet.

Diet accuracy index: We developed the diet accuracy index (DAI) to evaluate the nutrition accuracy of the diets. The DAI contrasts the nutrient requirement versus the nutrient offered in the diet and is calculated in absolute positive values.

$$DAI_{PEN} = \sum_{i=1}^{cow}\left(\frac{NE_{DIET,PEN}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\right),$$

$$DAI_{PEN} = \sum_{i=1}^{cow}\left(\frac{MP_{DIET,PEN}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\right), \quad [3]$$

Interpreting DAI: Diet accuracy is inversely related to the magnitude of the calculated DAI value. The lower the value, the closer to zero the value, the better the diet accuracy. Since the DAI per pen is a sum of the absolute values, DAI per pen includes the over fed and underfed cows.

Grouping cows

Grouping cows is a common strategy used among dairy farmers. It is implemented to cluster cows regarded to their milk production, time on lactation, age, health, and reproduction status. Considering the same factors for grouping cows practice and nutritional requirements parameters, we have developed a mathematical tool that helps to implement nutritional grouping strategy in dairy farms.

A model section was developed to cluster 476 multiparous cows, on early lactation (148±65 DIM), in three different PENs using NE (Mcal/kg), and MP (g/kg of DMI) as grouping criteria. The goal was to improve nutritional accuracy per PEN without generating important changes in the grouping management strategy implemented by the farmer. K-means package from R studio® was used for clustering the cows group in three different PENs, using normalized values of NE and MP as grouping criteria. The k-means algorithm calculated three (k=number of PENs) different centers (data means: and) and allocate the closest and values to each center. The grouping algorithm was run every week on Mondays, same as it is usually done in the dairy farm.

Diet formulation

The determination of the optimum lead factors, NE and MP, to be use in diet formulation of each PEN was made in two steps. Optimizing the nutritional accuracy of the diet and determining the optimum lead factor within the NE and MP requirement distribution of each PEN.

Optimizing diet nutrient supply: The optimum NE and MP to be consumed by the cow, was calculated by equalizing to zero the difference of the aggregated nutrient requirement provided within a group of cows.

Net energy:

$$\frac{NE_{DIET}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}} = 0\,,$$

$$\frac{NE_{DIET}}{DMI_{Farm}} = \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\,,$$

$$NE_{DIET} = DMI_{Farm,PEN} \times \frac{NE_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\,, \quad [4]$$

Metabolizable protein:

$$\frac{MP_{DIET}}{DMI_{Farm,PEN}} - \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}} = 0\,,$$

$$\frac{MP_{DIET}}{DMI_{Farm}} = \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\,,$$

$$MP_{DIET} = DMI_{Farm,PEN} \times \frac{MP_{REC(i)}}{DMI_{CALC(i)}}\,, \quad [5]$$

Lead factor optimization: The least squares L2-norm equation from R studio® package was used to minimize the least squares value of each PEN nutritional requirement distribution, which was used as the reference value to find the NE and MP lead factors for diet formulation.

Diet formulation: The diets for each PEN were formulated every week using NDS software. The input values for balancing the different diets were obtained from the nutritional grouping model. Net energy and MP lead factors and statistical summaries about the profile of cows in each PEN from nutritional grouping model outputs, were used to populate the NDS software required inputs.

RESULTS AND DISCUSSION

Grouping cows

A common practice on this farm is to assign the group of 472 cows indiscriminately to three different Pens. This explains the similar distribution of MP (g/kg of DM) and NE (Mcal/kg of DM) cow requirements among Pens 1-3 (Figure 1).

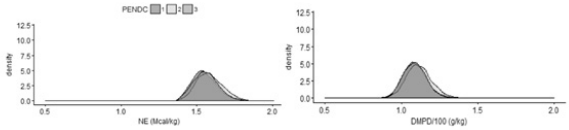


Figure 1. Distribution of the NE (Mcal/kg, left) and MP (g/kg, right) cow requirements among Pens 1-3 under the farm's current grouping strategy.

After calculating the optimum MP (g/day) and NE (Mcal/kg of DM) for each cow in the group, MP (g/day) was divided by the to get MP (g/kg of DM) and both NE and MP nutrient values were normalized and clustered in three groups using k-means algorithm from R. In Figure 2 are the grouping outputs from k-means algorithm, where the grey, yellow and blue points are the group of cows with low, medium and high NE and MP requirements, respectively. The grey point values were assigned to PEN 1, yellow point values to PEN 2, and blue point values to PEN 3.

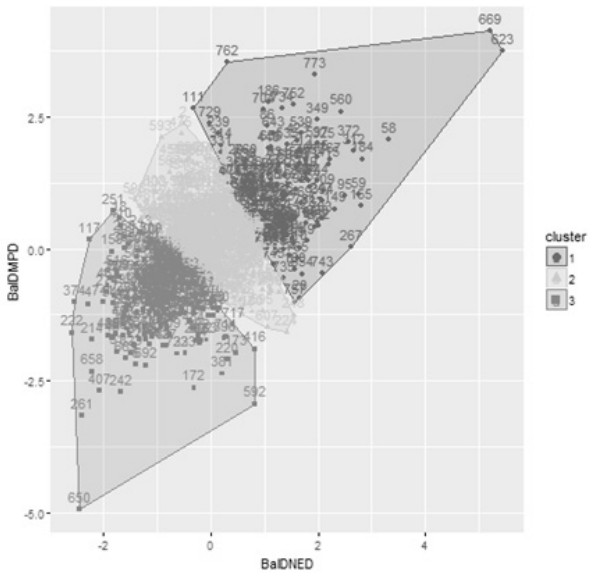


Figure 2. Nutritional group plots from k-means outputs.

Once the new nutritional grouping Pens were created, A new distribution for NE and MP for each PEN were generated (refer to Figure 3).

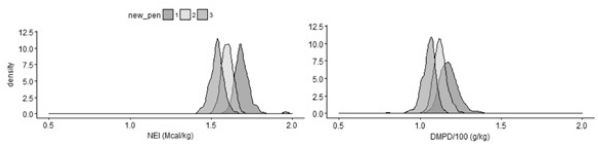


Figure 3. Distribution of the NE (Mcal/kg, left) and MP (g/kg, right) cow requirements among Pens 1-3 under nutritional grouping strategy.

By implementing k-means algorithm as tool for nutritional grouping, cows were assigned to more homogeneous nutritional requirement clusters. Therefore, their diets had higher nutritional accuracy. Results in Table 3 indicate greater DAI for NE and MP with nutritional grouping Pens in comparison to current farm grouping. s. Different than farm grouping Pens, the NE and MP DAI values for each nutritional grouping Pen was closer to zero, which indicates greater accuracy of the diets formulated for these Pens. The greater nutritional accuracy of diets is reflected in the adjustments of NE and MP supplied in the diets for the nutritional grouping Pens.

Table 3. Nutritional and economic effect of farm and nutritional grouping strategy in a group of 472 multiparous early lactation cows during 84 days (June 1st - August 22nd, 2017).

	Farm grouping strategy (FGS)			Nutritional grouping strategy (NGS)			FGS - NGS
Parameter	PEN1	PEN2	PEN3	PEN1	PEN2	PEN3	Todas las PENs
DMI (kg/cow/d)	30.1± 2.92	29.7± 1.48	30.3± 1.28	30.2± 0.98	29.7± 1.18	29.8± 1.13	-0,14
Diet NE (Mcal/kg)	1,74			1.65± 0.02	1.69± 0.01	1.73± 0.01	-0,05
Diet MP(g/kg)	120.9± 36.2	119.3± 6.68	116.7± 4.87	110.0± 4.04	110.4± 8.34	113.6± 59	-7,67
Diet N (g/cow/d)	770,3			745.0± 53.4	757.0± 41.1	760.0± 51.6	-16,3
MNE (%)	31.3± 4.11	31.5± 4.22	31.2± 3.98	32.8± 3.09	31.4± 2.79	32.6± 2.74	0,90
DAI NE (Mcal/kg)	0.246± 0.424	0.164± 0.086	0.184± 0.081	0.032± 0.029	0.045± 0.053	0.034± 0.025	-0,16
DAI MP (g/kg)	9.69± 7.24	8.85± 6.27	9.06± 5.83	3.42± 3.15	4.85± 5.19	3.91± 3.11	-5,14
Diet cost ($/84 day)	$307,666			$302,383			$5,283

The calculated DMI for nutritional grouping Pens was 0.11 (kg/day) lower than the current farm DMI. This small difference is explained by the adjustment of the DMI in equation [2]. The MP (g/cow/day) values used as the lead factor for formulating the diets of nutritional-grouped Pens was constrained by the MP (g/day) cow requirement for each nutritional-grouped Pen. The customization of diets for each nutritional-grouped Pen, with more homogeneous nutritional requirements, resulted in lower average MP (7.7 g/kg) diet concentration in comparison with the current MP concentration.

The better diet accuracy in the diets for nutritional grouping generate environmental benefits. The decrease of MP (g/kg of DM) supplied in the diets for nutritional grouping Pens resulted in lower diet N supply (16.3 grams/cow/day) as in Table 3. This translated into 0.9%-unit greater milk-N efficiency.

The decrease in the average cost of diets for nutritional-grouped Pens resulted in economic savings for the farm. As in Table 3, the cost of feeding 472 cows for 84 days, using proposed nutritional grouping strategy, was $5,283 less costly than the current farm grouping strategy.

CONCLUSIONS

The nutritional grouping strategy improved nutritional accuracy and generated feed cost savings. Using NE and MP as criteria for nutritional grouping resulted in more homogeneous groups of cows in terms of nutritional requirements. The utritional grouping strategy increased the nutritional accuracy of the diets. The increase in diet nutritional accuracy resulted in better allocation of net energy and metabolizable protein diet supply to the nutritional groups. More accuracy of N supply by diets with nutritional grouping may decrease the N waste and increase the milk N efficiency to benefit the environment.

REFERENCES

- Cabrera, V. E, F Contreras, R. D Shaver, and L. E Armentano. 2012. "Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle. Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle." *Four-State Dairy Nutrition and Management*

Conference. Dubuque, IA: Wisconsin Agri-business Association, Madison. 40-44.

- Cabrera, V. E., and A. S. Kalantari. 2016. Economics of production efficiency: Nutritional grouping. Journal of Dairy Science 99:825–841.
- Contreras-Govea, F. E, V. E Cabrera, L.E Armentano, R. D Shaver, P. M Crump, D. K Beede, and M. J Vandehaar. 2014. "Constraints for nutritional grouping in Wisconsin and Michigan dairy farms." *Jurnal Dairy Science* 1336-1344. http://dx.doi.org/ 10.3168/jds.2014-8368.
- Coppock, Carl E. 1977. "Feeding Methods and Grouping Systems." *Journal of Dairy Science* 60 (8): 1327-1336. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)84030-7.
- Kalantari, A. S, L. E Armentano, R. D Shaver, and V. E Cabrera. 2016. "Economic impact of nutritional grouping in dairy herds." *Journal Dairy Science* 1672-1692. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9810.
- McGilliard, M. L., J. M. Swisher, and R. E. James. 1983. "Grouping Lactating Cows by Nutritional Requirements for Feeding." *Journal of Dairy Science* 66 (5): 1084-1093. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81905-5.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academies Press, Washington, DC.
- Pecsok, S.R, M.L McGilliard, R.E James, T.G Johnson, and J.B Holter. 1992. "Estimating Production Benefits Through Simulation of Group and Individual Feeding of Dairy Cows." *Journal of Dairy Science* 75 (6): 1604-1615. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77917-X.
- Stallings, Charles C. 2011. "Feeding Cows with Increasing Feed Prices: Efficiencies, Feed Options, and Quality Control." *Proceedings 47th Florida Dairy Production.* Gainesville. 40-45. http://dairy.ifas.ufl.edu/dpc/2011/Stallings.pdf.
- Williams, C.B, and P.A Oltenacu. 1992. "Evaluation of Criteria Used to Group Lactating Cows Using a Dairy Production Model." *Journal of Dairy Science* 75 (1): 155-160. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77749-2.

APLICACIÓN PRÁCTICA DE LA TEORÍA DE OXIDACIÓN HEPÁTICA

Mike Allen

Department of Animal Science, Michigan State University

RESUMEN

- La ingesta de alimentos se ve afectada por la interacción de las características de la dieta, el estado fisiológico de los animales, y de factores estresantes del entorno.
- Las señales dominantes que controlan la ingesta de alimento pueden cambiar durante la lactancia. El control de la ingesta de alimentos está dominado probablemente por la oxidación hepática de ácidos grasos no esterificados durante la transición y por el propionato al final del periodo de lactancia, mientras que la distensión ruminal probablemente controla el consumo de alimento de las vacas en el punto máximo de la lactancia. Por lo tanto, la optimación del consumo de alimento requiere dietas diferentes durante el periodo de la lactancia (es decir, la agrupación de las vacas).
- El controlar la movilización de los depósitos de grasa corporal durante la transición y el limitar los alimentos con almidón que se fermenta rápidamente son claves para maximizar el consumo de alimento durante la transición.
- La producción máxima de leche se consigue con dietas de baja saciedad que son altamente fermentables. La saciabilidad de las dietas se ve afectado mayormente por la concentración, la digestibilidad, y la fragilidad del forraje FDN.
- Las dietas deben ser formulados para limitar la fermentabilidad del almidón para proporcionar un suministro de combustible más constante según se va disminuyendo la producción de leche después de la producción máxima y según aumentan la concentración de la insulina plasmática y la sensibilidad a la insulina de los tejidos.

INTRODUCCIÓN

El consumo de alimento viene determinado por muchos factores que interactúan y la predicción de la ingesta de energía y de la partición es el "talón de Aquiles" de la formulación de la dieta. Muchas características de la dieta interactúan con el entorno y el estado fisiológico de las vacas, lo que hace difícil predecir con exactitud el consumo de alimento. Sin embargo, la comprensión de los factores que controlan la alimentación nos permite manipular la dieta para optimizar la ingesta de alimento. El comer está controlado por la integración de las señales periféricas en los centros de alimentación del cerebro. Las dietas de las vacas lecheras deben contener una concentración de forraje duro (fibra) de baja energía relativa para el funcionamiento correcto del rumen y las señales de distensión ruminal pueden controlar el consumo de alimento cuando el deseo de comer es alto y el control metabólico de la ingestión de alimentos está disminuida (por ejemplo, vacas en el momento de máxima lactación). Las señales que derivan del metabolismo de los combustibles dominan el control de la ingesta de alimento cuando se reducen las señales de la distensión (por ejemplo, vacas en un momento tardío de lactancia). Por lo tanto, los efectos de la dieta en el consumo de alimento varían con el estado fisiológico del animal. Además, interactúan con los estresores ambientales, tales como el estrés social (p.ej. hacinamiento) y térmico. El objetivo de este trabajo es analizar los factores que controlan el consumo de alimento en las vacas lactantes y cómo pueden manipularse para optimizar el consumo de alimento. La ingesta "óptima" de alimento puede referirse a lo máximo requerido para lograr un mayor rendimiento de leche en el caso de vacas de alta producción o inferior al máximo para aumentar la eficiencia de la transformación del alimento en el caso de vacas de menor producción.

TEORÍA DE OXIDACIÓN HEPÁTICA (HOT)

Hay mucha evidencia (la mayoría de especies no rumiantes) de que la ingesta de alimentos está controlada por la oxidación de los combustibles en el hígado. Esto se ha estudiado anteriormente (Allen *et al.*, 2009; Allen, 2014) y sólo será discutido brevemente aquí. El hígado esta "conectado" a los centros de alimentación del cerebro a través del nervio vago hepático. El comportamiento alimenticio está controlado por la velocidad de disparo del nervio, que viene determinada por la oxidación de los combustibles en el hígado; un aumento de la velocidad de disparo está asociado con el hambre, y una velocidad menor está asociada con la saciedad. Se ha vinculado el comportamiento alimenticio a la concentración de ATP (una forma energía dentro de las células) en el hígado y la saciedad ocurre según los combustibles se oxidan y se produce ATP, y el hambre se produce cuando la oxidación disminuye y se agota el ATP. Los combustibles oxidados en el hígado incluyen los ácidos grasos (de la dieta o movilizados de las reservas corporales), el propionato (producido por la fermentación microbiana en el intestino), el lactato (producido por los músculos y el tejido intestinal a partir de la glucosa), y los aminoácidos (de la degradación de proteínas). Es importante darse cuenta de que el patrón de la oxidación de los combustibles (minuto a minuto) es lo que afecta al comportamiento alimenticio, porque la cantidad de oxidación durante largos períodos de tiempo (horas o días) es relativamente constante.

CAMBIOS FISIOLÓGICOS DURANTE LA LACTANCIA

Como los ácidos grasos son fácilmente oxidados en el hígado, el suministro de ácidos grasos no esterificados (NEFA) causados por la movilización de las reservas de grasa corporal probablemente suprime el consumo de alimento en el período de transición. El grado de movilización de la grasa se ve afectada por cambios en la concentración de insulina en el plasma y la sensibilidad de los tejidos a la insulina. Si la concentración de insulina plasmática es alta, manda señales a los tejidos para que sinteticen grasa, o a movilizar la grasa si la concentración es baja. Los cambios en la sensibilidad de los tejidos a la insulina durante el ciclo de lactación modifican esta señal; la menor sensibilidad (mayor resistencia) se traduce en una mayor movilización de la grasa y la mayor sensibilidad resulta en una menor movilización de la grasa ante la misma concentración de insulina. La concentración de insulina plasmática disminuye un 50% o más a la hora de parir, y comienza a bajar varias semanas antes del parto. Aumenta la concentración de los NEFA en el plasma porque la grasa se moviliza en respuesta a la disminución de la concentración de insulina plasmática. Además, la sensibilidad de los tejidos a la insulina disminuye a finales de la gestación, contribuyendo a la mayor movilización

de la grasa. Una concentración reducida de insulina plasmática y la menor sensibilidad a la insulina ayudan a la vaca a mantener constante la concentración de glucosa plasmática, a pesar del descenso en el consumo de alimento en la última semana antes del parto. Esto es debido a que la utilización de la glucosa por los tejidos disminuye, y la utilización de los NEFA por el músculo aumenta, escatimando la glucosa.

La concentración de glucosa plasmática desciende precipitadamente en el momento del parto y se recupera parcialmente en el transcurso de las próximas semanas según va aumentando la DMI y la gluconeogénesis en el hígado. La concentración de insulina plasmática y la sensibilidad de los tejidos a la insulina siguen siendo bajos al principio de la lactancia y, por lo tanto, la concentración de los NEFA en la plasma permanece elevada durante varias semanas o más. La elevada concentración de los NEFA proporciona energía a los tejidos cuando las concentraciones de insulina y glucosa en plasma son bajas. El tiempo que los NEFA permanecen elevados varía enormemente entre vacas y depende de la tasa de su movilización y extracción de la sangre por el hígado y la glándula mamaria. La transferencia de los NEFA a la grasa láctea por la glándula mamaria es altamente deseable porque el almacenamiento de los NEFA en forma de triglicéridos en el hígado produce hígado graso, lo cual compromete la producción de glucosa, y la oxidación de los NEFA en el hígado probablemente disminuye el consumo de alimento de acuerdo con la HOT (Teoría de Oxidación Hepática). Esto, a su vez, retrasa el aumento de la concentración de glucosa plasmática después del parto, extendiendo la supresión de la ingesta. Esto es porque la glucosa estimula la secreción de insulina por el páncreas, y la concentración de insulina plasmática permanece baja, extendiendo el período de movilización de grasa y, por lo tanto, ampliando el período en que el consumo de alimento es suprimido por la oxidación en el hígado. Además, los bajos niveles plasmáticos de la glucosa probablemente limita la producción de leche porque la glucosa es requerida por la glándula mamaria para la producción de la lactosa de la leche, la principal determinante del volumen de leche.

La oxidación hepática de los NEFA es un proceso de dos etapas; largas cadenas de carbono de los ácidos grasos son parcialmente oxidadas y convertidas en Acetil CoA, una molécula de dos carbonos, que es totalmente oxidada o se exporta en forma de cetonas. La capacidad del hígado para oxidar completamente los NEFA es limitado, así se exporta a las cetonas y su concentración en el plasma es elevada cuando la movilización de la grasa es alta. Las cetonas pueden ser beneficiosas porque algunos tejidos las pueden utilizar para obtener energía, evitando el uso de la glucosa, pero pueden causar cetoacidosis si las concentraciones son muy altas.

El aumento de la lipólisis tras el parto, junto con las dietas con un contenido alto de almidón, probablemente inhiben la ingesta de alimento porque la producción rápida y la absorción de propionato estimula la oxidación de acetil CoA (véase más abajo). Como la ingesta de alimentos por vacas frescas (recién paridas) viene controlada probablemente por la oxidación hepática, las dietas con concentraciones moderadamente altas de fibra de forraje podrían ser beneficiosas para las vacas. La fibra del forraje aumenta el llenado del rumen, disminuyendo el riesgo del desplazamiento abomasal, y aumenta la producción de acetato, lo cual resulta en una menor utilización de glucosa por los tejidos extrahepáticos. Las fuentes de almidón con una fermentabilidad ruminal moderada y alta digestibilidad en el intestino delgado, tales como el maíz seco molido, proporcionarán probablemente más precursores de glucosa al aumentar la ingesta de alimento.

La producción de leche aumenta rápidamente tras el parto, y durante las próximas semanas el aumento de la glucosa plasmática estimula la secreción de insulina, disminuyendo así la lipólisis y la concentración de los NEFA en plasma. Como una menor cantidad de los NEFA está disponible para la oxidación, la concentración de acetil CoA en el hígado disminuye, reduciendo la segregación de cetonas por parte del hígado. La falta de acetil CoA y de la demanda alta de glucosa limita la acumulación de ATP en el hígado, y disminuyen las señales de saciedad dirigidas al cerebro. Según sigue aumentando la producción de leche y disminuye el control de la ingesta de alimento por oxidación hepática, el control está dominado por la distensión del intestino lleno y las vacas deberían pasar a una dieta que llena menos y sea más fermentable. Este cambio en el mecanismo predominante de la regulación de la ingesta puede darse entre 7 a 10 días después del parto en algunas vacas del hato, o después de más de 3 semanas en otras; las señales más claras de que la oxidación hepática se ha vuelto menos limitativa son un nivel inferior de las concentraciones de los NEFA y cetona plasmáticas y el gradual aumento de la ingesta de comida.

Según van disminuyendo los requerimientos de energía después de la producción de leche máxima, el control de la ingesta de alimento por la distensión del tubo digestivo disminuye gradualmente y aumenta el control por oxidación hepática. La concentración de insulina plasmática y la sensibilidad de los tejidos a la insulina aumentan a medida que avanza la lactación y afectan la respuesta a la ingesta de alimento a dietas altamente fermentables. Unas concentraciones altas de insulina plasmática que indican la existencia de un estado nutricional adecuado, probablemente proporcionarán información negativa relativa a la gluconeogénesis hepática. Esta relación es compatible con la HOT porque el menor uso de propionato para la producción de glucosa resulta en una mayor oxidación de propionato y en la disminución de la ingesta de alimentos, La vacas individuales con un suministro adecuado de precursores glucogénicos pueden responder a un mayor aumento de suministro mediante la disminución de DMI. Una mayor sensibilidad de los tejidos a la insulina probablemente aumenta la eliminación de los combustibles de la sangre, dedicando más energía a las reservas corporales y reduciendo el intervalo entre comidas.

OPTIMIZAR LA MOVILIZACIÓN DE GRASA

Los NEFA en plasma son utilizados como una fuente de energía por los tejidos maternos y fetales, ahorrando así la glucosa, y también enriquece el contenido de grasa de la leche. Sin embargo, los niveles elevados de los NEFA pueden reducir el consumo de alimento y suprimir la función inmune. Para limitar las concentraciones de los NEFA plasmáticos, hay que controlar la tasa de movilización de grasa. La tasa de movilización de grasa depende de la cantidad de reservas de grasa disponibles para la movilizar, así como de la concentración de insulina, la sensibilidad de los tejidos a la insulina y el estrés. La importancia de controlar la condición corporal en el momento del parto ampliamente conocida. Las vacas con una condición corporal excesiva suelen movilizar la grasa muy rápidamente a través de la transición porque sus tejidos son más resistentes a la insulina y tienen mayores reservas de grasa para movilizar. Por lo tanto, es muy importante controlar la condición corporal para limitar el sobreacondicionando de las vacas mediante la gestión de la reproducción, la agrupación de las vacas lactantes, la

formulación de la dieta, etc. El permitir que las vacas consumen más energía de la necesaria durante el período de seca se traduce en un aumento de las concentraciones de los NEFA en los primeros periodos de la lactancia (Holtenius *et al.*, 2003). El controlar el consumo de energía mediante la alimentación altamente saciante durante este período relativamente corto podría reducir los depósitos de grasa fácilmente movilizada, reduciendo así la tasa de movilización de grasa después del parto. La movilización de grasa se reduce al aumentar la sensibilidad de los tejidos grasos a la insulina (menor resistencia a la insulina). La niacina disminuye la movilización de grasa pero probablemente necesita complementarse con concentraciones mayores de las que actualmente se recomienda a menos que se administra de manera protegida. Se ha demostrado que el cromo aumenta la sensibilidad a la insulina y un suplemento de cromo ha reducido las concentraciones de los NEFA en plasma en las vacas lactantes. Un aumento más rápido de la glucosa plasmática tras el parto probablemente aumentará la insulina y disminuirá más rápidamente las concentraciones de los NEFA. Sin embargo, el aumento de la sensibilidad a la insulina del tejido adiposo es preferible a aumentar la concentración de insulina debido a que la insulina puede reducir la producción de glucosa en el hígado. Las hormonas liberadas durante el estrés aumenta la grasa de movilización, elevando la concentración de los NEFA en plasma aún más. Por lo tanto, debe prestarse mayor atención a la reducción de todos los posibles factores estresantes en las vacas, incluyendo interacciones estresantes con los trabajadores ganaderos, los procedimientos de gestión, y las instalaciones (por ejemplo, la cama, ventilación, espacio).

EL PAPEL DEL ÁCIDO PROPIÓNICO

El ácido propiónico, producido por fermentación microbiana en el intestino, es un combustible primario que controla la ingesta de alimentos en los rumiantes alimentados con dietas que contienen altas concentraciones de grano. Es uno de los principales productos finales de la fermentación del almidón, y las tasas de producción varían considerablemente entre las dietas. Mientras que el ácido propiónico se produce en el rumen, una vez absorbido en la sangre aparece en su forma iónica como propionato. El ácido propiónico puede ser producido y absorbido a tasas muy elevadas y el propionato es absorbido rápidamente por el hígado, donde es uno de los principales combustibles utilizados para producir glucosa. Sin embargo, cuando es absorbido a un ritmo mayor de lo que puede ser utilizado para producir glucosa en el hígado, estimulará la producción de ATP, en mayor medida, produciendo una señal de saciedad más rápidamente. La capacidad del hígado para producir glucosa se ve afectada por la demanda de glucosa (la diferencia entre la glucosa requerida y la glucosa producida) dado que las enzimas que limitan la producción en el hígado se reajustan para satisfacer la demanda. A causa de esto, el propionato es menos propenso a oxidarse (y disminuir la ingesta de alimento) en el pico de la lactancia, cuando la demanda de glucosa es alta, que al final de la lactancia cuando la demanda de glucosa es menor. Aunque se podría pensar que el propionato tiene poco efecto sobre la ingesta de alimento en las vacas frescas porque tienen alta demanda de glucosa, el propionato también estimula la oxidación de acetil CoA. Las vacas frescas tienen una gran cantidad de acetil CoA en el hígado a partir de la oxidación parcial de los NEFA. Parte de ese acetil CoA se exporta en forma de cuerpos cetónicos, pero también es fácilmente oxidado cuando el propionato es tomado por el hígado, generando rápidamente ATP y dando una señal de saciedad (véase Allen, 2014 para más detalles). Aparentemente, esto es un dilema: el propionato es uno de los principales combustibles utilizado para producir glucosa, que se necesita para aumentar la insulina y disminuir los NEFA, aliviando así la reducción de la ingesta de alimento causado por la oxidación de los NEFA en vacas frescas, pero el propionate suprime la ingesta de alimento mediante el estímulo de la oxidación del acetil CoA en las vacas frescas. Sin embargo, existen opciones de formulación de dieta que ayudan a prevenir la reducción de la ingesta de alimentos, incluida la manipulación de la tasa de producción de propionato para extender el tiempo de alimentación, suministrando otros precursores de la glucosa que estimulan la oxidación del acetil CoA en menor medida y proporcionan fuentes alternativas de energía para los tejidos y así usar menos glucosa. El objetivo es maximizar la cantidad de glucosa producida o ahorrada por unidad de ATP generada en el hígado a lo largo del tiempo. Manipular el patrón de oxidación de los combustibles en el hígado puede aumentar las concentraciones de insulina y glucosa plasmática, disminuyendo la movilización de la grasa y el tiempo en que la ingesta de alimento es suprimida por la oxidación de los NEFA en el hígado.

ALTERANDO EL FLUJO DE PROPIONATO AL HÍGADO

La tasa de producción de propionato puede disminuirse reduciendo la concentración y la fermentabilidad del almidón, lo cual se examinan a continuación.

Concentración de Almidón Dietético A menudo, se suele reducir la concentración de almidón en las dietas sustituyendo el forraje o la fibra de fuentes no forraje (NFFS) como la pulpa de remolacha o las cáscaras de soja por granos del cereal. La dilución del almidón en la dieta tiene el beneficio añadido de reducir la tasa de fermentación del almidón restante cuando se reduce la concentración de almidón mediante la adición de forraje o NFFS, reduciendo así la tasa de producción de ácido propiónico. La estrategia óptima depende del costo relativo de los ingredientes, la eficiencia de la utilización de piensos, la producción. Por ejemplo, las partículas de fibra larga del forraje en comparación con los NFFS podrían aumentar la digestibilidad de la fibra aumentando el pH ruminal mediante la estimulación de la rumia y aumentando la retención ruminal y, por lo tanto, la capacidad tampón del bolo alimenticio en el rumen. Sin embargo, la fibra del forraje es muy saciante y el forraje podría limitar la ingesta alimento en comparación con los NFFS. Por lo tanto, cuando la distensión ruminal contribuye al control de la ingesta de alimentos, la sustitución del NFFS por grano puede ser una mejor opción que la sustitución del forraje.

Sitio de la Digestión del Almidón La sustitución de una fuente menos fermentable de almidón es una opción cuando la ingesta de alimento se reduce por una fuente de almidón fermentado rápido. Alterando la fermentabilidad del almidón dietético probablemente será más conveniente que la sustitución del almidón por fibra en el caso de rumiantes con alta demanda de glucosa, como las vacas al comienzo de la lactancia, porque la digestión del almidón postruminal produce mayor cantidad de precursores de la glucosa que la fermentación ruminal de la fibra. Es importante señalar que la fracción de los precursores de la glucosa facilitados por la fermentación del almidón en el intestino grueso es mucho menor que en el rumen o en el intestino delgado debido a que las células microbianas que contienen almidón se pierden con las heces. Por lo tanto, la consideración cuidadosa de la zona donde tiene lugar la digestión del almidón es muy importante para maximizar el rendimiento de los precursores de la glucosa a lo largo del tiempo. Las fuentes de almidón con menor digestibilidad ruminal deben ser altamente digestibles en el intestino delgado para proporcionar

la mayor cantidad posible de precursores de la glucosa. Por ejemplo, el maíz seco molido y agrietada reducen la tasa de producción de ácido propiónico en el rumen en comparación con el maíz de alta humedad, pero el maíz molido proporcionará mayor cantidad de precursores de la glucosa debido a su mayor digestibilidad en el intestino delgado y tracto total.

Efectos del Contenido y de la Fermentabilidad del Almidón en la Ración sobre el DMI

La sustitución de una fuente de almidón altamente fermentable por una fuente de almidón menos fermentable redujo dramáticamente el DMI de las vacas que había superado el pico de lactación en varios estudios, pero no tuvo efecto en el DMI en otros estudios (Allen, 2000). El aumento del contenido de almidón en la ración ofrecida a las vacas en lactación de ~23 a ~34% (~24 a 16% forraje FDN, respectivamente) produjo efectos variables de DMI y FCM dependiendo de la producción de leche de las vacas (rango en FCM: de ~50 a ~130 lb/d). Los efectos, sobre la DMI, de la ración alta en almidón y baja en forraje FDN se incrementó linealmente con el aumento de la producción de leche de las vacas en toda la gama, mientras que la respuesta de la FCM sólo aumentó en las vacas que excedían de ~90 lb/d de FCM (Voelker *et al.*, 2002). Los efectos sobre el DMI se debieron probablemente a que la dieta alta en almidón era menos saciante (16% forraje FDN) y el llenado del rumen es una mayor limitación a la ingesta de alimentos según aumenta el producción de leche (Allen, 1996), mientras que la respuesta relacionada con la FCM probablemente dependió de los efectos de la ración sobre la digestabilidad y la partición de la energía en las vacas.

El estado fisiológico de los animales determina los efectos de la digestabilidad del almidón sobre el DMI (Bradford y Allen, 2007) y la producción (Bradford y Allen, 2004). El maíz de alta humedad comparado con maíz seco molido tuvo unos efector contrarios en el rendimiento lechero de las vacas dependiendo del rendimiento lechero inicial, sin cambios en el grupo en general. El maíz de alta humedad aumentó la concentración de grasa láctea y el rendimiento de FCM en vacas que producían más de ~90 lb/día pero disminuyó en la vacas que producían menos de esa cantidad (Bradford y Allen, 2004). El efecto del tratamiento sobre el DMI no estaba relacionado con la producción de leche, sino que se vio afectado por la condición fisiológica de las vacas; la caída del DMI visto con el maíz de alta humedad comparado con el tratamiento con maíz seco estaba relacionado con la concentración de insulina en el plasma y la respuesta de la insulina a un aumento de la glucosa (Bradford y Allen, 2007). La ingesta de alimentos de las vacas con una concentración de insulina mayor, y una menor respuesta de la insulina a un aumento de la glucosa, se redujo en gran medida gracias al maíz de alta humedad en comparación con el maíz seco molido. Según avanza la lactación y la producción de leche disminuye, la ingesta de alimentos se ve dominada cada vez más por señales metabólicas. Las dietas muy fermentables a menudo llevan a una reducción de la ingesta de alimentos a mediados o finales de la lactancia, probablemente por la estimulación de la oxidación hepática del propionato (Allen *et al.*, 2009). La reducción de la fermentabilidad ruminal del almidón mediante la sustitución de maíz seco por maíz de alta humedad en las raciones, a menudo aumenta la ingesta de energía y su partición en esta vacías.

Varios experimentos han proporcionado dietas con diferente contenido de almidón en el período postparto (Andersen *et al.*, 2003; Rabelo *et al.*, 2005; Dann y Nelson, 2011). El aumento del contenido de almidón aumentó el DMI y la producción de leche en unos experimentos reportados por Anderson *et al.* (2003) y Rabelo *et al.* (2005), pero, en esos experimentos, se cambiaron los granos por forraje, incrementado el contenido de forraje de FDN en la dieta. El forraje FDN es muy saciante (Allen, 2000) y el gran aumento del contenido de forraje FDN en las dietas de estos estudios probablemente contribuyó a la saciedad al incrementar la distención ruminal, especialmente según iba avanzando la lactación y disminuía el estado lipolítico. Dann y Nelson (2011) sustituyeron la harina de maíz por fuentes de forraje sin fibra para aumentar el contenido de almidón de la dieta del 21% al 25,5%, y la dieta con mayor almidón redujo la DMI a 1.5 kg/d. Las fuentes de forraje sin fibra son menos saciantes que el forraje FDN (Allen, 2000), así que los efectos saciadores de las dietas eran probablemente mucho más parecidas en ese experimento que cuando se cambiaron los granos por forraje. Varios experimentos han evaluado los efectos de la fermentabilidad ruminal del almidón en las dietas de vacas en el período de posparto (Dann *et al.*, 1999; Sadri *et al.*,, 2009; Rockwell and Allen, 2016). Un aumento de la fermentabilidad ruminal del almidón mediante la sustitución de maíz en copos (procesados con vapor) por maíz roto tiende a disminuir el DMI en más de 1 kg/d en los primeros 63 d postparto aunque no se informaron de interacciones en el tiempo y se esperaría que una mayor fermentabilidad ruminal tendría un mayor efector en las primeras pocas semanas de lactancia (Dann *et al.*, 1999). Sadri *et al.* (2009) compararon granos que variaban en relación a la fermentabilidad ruminal del almidón durante el período de transición y el tratamiento de la cebada más fermentable redujo el DMI en comparación con el maíz tanto durante el preparto y postparto. Mientras que la sustitución de maíz con alto contenido de humedad por maíz seco no afectó la DMI en las vacas en el período de posparto en otro estudio (Rockwell y Allen, 2016), la ingesta de alimento fue probablemente limitada por la distensión porque la dieta era muy saciante con un 27% de forraje FDN. Recientemente, informamos de un estudio en la que se evaluaron los efectos del contenido de almidón en la ración (22% vs 28%) y de la fermentabilidad del almidón (maíz de alta humedad vs. maíz seco) en vacas en el período de posparto (Albornoz y Allen, 2016). El maíz de alta humedad redujo la DMI y la leche corregida por grasa en un 4,8 y 11 lbs/d, respectivamente, mientras que el contenido de almidón de la ración no tuvo ningún efecto durante los primeros 23 d de la lactancia. La producción más rápida de ácido propiónico durante las comidas probablemente causó la saciedad antes en el caso de las fuentes de almidón fermentable, reduciendo la ingesta de alimento y la producción de leche. Estos resultados son coherentes con nuestras expectativas basadas en la teoría de oxidación hepática del control de la ingesta de alimentos (Allen *et al.*, 2009).

CONTENIDO INTESTINAL

Según aumenta la ingesta de alimento con el comienzo de la lactancia, el control de la ingesta de alimento se ve dominada por la distensión ruminal, y la medida en que la distensión ruminal limita la ingesta de alimentos está directamente relacionada con la producción de leche (Voelker *et al.*, 2002). Tras el periodo fresco, se debe alimentar a las vacas lecheras de alta producción con dietas con un menor efecto saciante para maximizar el consumo de alimento. El efecto saciante de una dieta viene determinada principalmente por la densidad inicial del volumen de los alimentos, así como su efecto saciante a lo largo del tiempo en el rumen. El efecto saciante general viene determinado por el contenido de FDN del forraje, el tamaño de las partículas del forraje, la fragilidad del forraje FDN determinado por el tipo de forraje (legumbres, hierbas perennes,

gramíneas anuales) y la digestibilidad del FDN dentro de una familia de forraje (Allen, 2000). El FDN del forraje es menos denso inicialmente, SE digiere más lentamente y se retiene en el rumen más tiempo que otros componentes de la dieta. La ingesta de alimento de las vacas de alta producción se ve a menudo reducida drásticamente al aumentar la concentración de FDN del forraje en la dieta. Varios estudios han registrado una disminución del DMI de hasta 4 kg/d cuando el contenido de FDN de la dieta se aumentó del 25 al 35% mediante la sustitución de los forrajes por concentrados. Aunque la mayoría de los estudios registraron una disminución significativa en el DMI según se aumentaba el forraje FDN, los efectos en el DMI varían dependiendo de hasta donde la ingesta se vio limitado por el llenado ruminal. Las vacas de alta producción están limitadas por el contenido máximo y el efecto de la saciedad de la fibra de forraje varía según el tamaño de las partículas y las características de fermentación.

Mientras la distensión ruminal se convierte en una limitación fundamental para la ingesta de alimentos según aumenta la producción de leche, es probable que tenga poco efecto en el consumo de alimento durante el periodo de transición si la ingesta de alimento es controlado principalmente por la oxidación en el hígado, a menos que la ración tenga un alto contenido de FDN del forraje. Las dietas pueden ser formulados para satisfacer las necesidades de energía y nutrientes, con grandes diferencias en la cantidad y la tasa de movimiento del bolo alimenticio ruminal. El hecho de formular dietas para mantener el contenido intestinal con ingredientes que se retienen en el rumen durante más tiempo y que tienen tasas moderadas de fermentación y una alta digestibilidad ruminal probablemente benefician a la vacas de transición de varias maneras. El bolo alimenticio ruminal proporcionará más energía a lo largo del tiempo cuando disminuye la ingesta de alimento al momento del parto o cuando sufre de trastornos metabólicos o enfermedades infecciosas. Esto ayudará a mantener la concentración de glucosa en plasma y evitar la rápida movilización de las reservas corporales en comparación con dietas formuladas con ingredientes que desaparecen del rumen rápidamente. El bolo alimenticio ruminal es muy importante para almacenar los ácidos de fermentación y esta capacidad de almacenaje está directamente relacionada con la cantidad de bolo alimenticio en el rumen. Por lo tanto, las dietas, formuladas con ingredientes que aumentan la cantidad de bolo alimenticio en el rumen tendrán mayor capacidad de almacenamiento y mantendrán la capacidad de almacenamiento más tiempo si disminuye el consumo de alimento. El almacenamiento insuficiente puede resultar en un pH ruminal bajo, lo cual reduce la digestibilidad de la fibra y la producción de acetato, e incrementa la producción de propionato, estimulando posiblemente la oxidación en el hígado y disminuyendo la ingesta de alimento. Un pH ruminal bajo también aumenta el riesgo de problemas de salud tales como úlceras ruminales, abscesos hepáticos, y la Laminitis, y provoca estrés, lo cual probablemente lleva a un mayor aumento de la movilización de reservas corporales. Las dietas formuladas con ingredientes que mantienen el bolo alimenticio en el rumen más tiempo cuando el consumo de alimento disminuye, disminuirá el riesgo de desplazamiento abomasal.

Partición de energía

Según progresa la lactación y pasa la máxima producción, la concentración de insulina y la sensibilidad de los tejidos aumentan gradualmente y la energía se particiona aún más hacía la condición corporal. Mientras que las vacas que están en su momento de mayor lactancia responden bien a las raciones con alto contenido en almidón, las vacas en lactancia tardía no. La sustitución de la fibra por almidón altera considerablemente los combustibles disponibles para los procesos intermediarios y a menudo resulta en una mayor partición de la energía hacía la leche que hacía la condición corporal. La sustitución de cascaras de soja por maíz seco molido en una proporción de hasta un 40% de la dieta de DM aumentó el porcentaje de la grasa láctea (linealmente de 3.60 a 3.91%) y redujo la ganancia de peso corporal (linealmente del 1,02 a -0,14 kg/d) sin ningún efecto en la producción de leche (~29 kg/d) y una ligera disminución del DMI (tendencia, lineal de 23.8 a 22.7 kg/g, Ipharraguerre *et al.*, 2002). La pulpa de remolacha hacía reducirse el BCS sin reducir la producción de leche ni la grasa láctea cuando se sustituía por maíz de alta humedad hasta en el 12% de la dieta DM (Voelker y Allen, 2003). Un experimento llevado a cabo con vacas en los 2 últimos meses de lactancia mostró que al sustituir la pulpa de remolacha por grano de cebada se reducía linealmente la puntuación de la condición corporal y del grosor de grasa en la espalda, se mantenía la producción de leche, y linealmente se aumentaba la grasa láctea y la generación de energía (Mahjoubi *et al.*, 2009). Una menor puntuación de la condición corporal y un aumento en la grasa láctea pueden deberse a una reducción lineal de la concentración de insulina en plasma que aumentaba linealmente la concentración de plasma de los NEFA. Finalmente, la infusión de glucosa intravenoso de hasta un 30% de la energía bruta necesaria hizo aumentar de forma lineal la insulina en plasma, el balance energético, el peso corporal y el grosor de la grasa en la espalda, sin afectar el DMI o la producción de leche en vacas en la mitad de su periodo de lactancia (Al-Trad *et al.,* 2009).

Recomendaciones

Ración para Vacas Frescas (parto hasta ~10-14 días postparto)
Las vacas recién paridas que están en un estado lipolítica corren un mayor riesgo de trastornos metabólicos y el consumo de alimento esta probablemente controlada por la oxidación de los combustibles en el hígado (Allen *et al.*, 2009). Estas vacas necesitan precursores de la glucosa y las raciones deben contener altas concentraciones de almidón en la medida de lo posible. No obstante, también tienen menor masa de bolo alimenticio en el rumen, lo que aumenta el riesgo de menor pH ruminal y abomaso desplazado. Las fuentes de almidón altamente fermentable aumentan la producción de ácido propiónico, lo que puede estimular la oxidación de los combustibles en el hígado, suprimiendo el consumo de alimento (Allen *et al.*, 2009). Por lo tanto, las fuentes con almidón altamente fermentable deben limitarse durante este período que dura hasta dos semanas para la mayoría de las vacas, pero aún más para las vacas estresadas o con excesiva condición corporal al parto. Las fuentes de almidón altamente fermentable, como el trigo, la cebada, el maíz en copos de baja densidad, y maíz de alta humedad maduro (más de 1 año de edad) y el maíz ensilado deben limitarse para permitir mayores concentraciones de almidón (y precursores de la glucosa) con menor riesgo de acidosis o abomaso desplazado. Complementar las dietas a base de maíz ensilado con maíz molido seco funciona bien para este tipo de ración con una concentración de almidón total de un 28% (masa DM) o posiblemente mayor dependiendo de la fermentabilidad de almidón en el maíz ensilado. Como el consumo de alimento se ve menos limitado por la distensión ruminal durante este período, y es deseable un mayor bolo alimenticio en el rumen, la concentración de forraje FDN debe ser ~ 23% y el uso de fuentes de fibra no-forraje se debería limitar a diluir la concentración de almidón, si es necesario. Las concentraciones de almidón deben reducirse

cuando la alimentación incluye fuentes de almidón altamente fermentables.

Raciones en la Lactancia Temprana a Media Las vacas a principios o mediados del periodo de lactación tienen altos requerimientos de glucosa para la producción de leche y dedican relativamente poca energía a las reservas corporales. Responden bien a las raciones de forraje con menor concentración de FDN (bajo) y con almidón altamente fermentable. La concentración de almidón de las raciones debe estar en el rango de 25 al 30% (DM) aunque la concentración óptima depende de la competencia por espacio de litera, forraje/concentración FDN eficaz, y la fermentabilidad del almidón. Las raciones con más almidón y menos saciantes generalmente aumentan el pico de producción de leche y disminuyen la pérdida de la condición corporal en el comienzo de la lactancia. Sin embargo, una vez que las vacas reponen su condición corporal perdida en el comienzo de la lactancia, deben cambiarse a una dieta de mantenimiento con menor concentración de almidón y fermentabilidad ruminal.

Ración de Mantenimiento (> 150 DIM y BCS de 3) La ración de mantenimiento es el componente clave de la formulación de la ración / sistema de agrupamiento para aumentar la salud y la producción de las vacas. El objetivo de la ración de mantenimiento es mantener la producción de leche y la condición corporal a lo largo del resto de la lactancia. Las vacas deben tomar la ración de mantenimiento cuando se están recuperando el BCS y llegan a un BCS de 3. Si siguen recibiendo una dieta alta en almidón, el BCS seguirá aumentando y correrán mayor riesgo de sufrir enfermedades metabólicas tras el parto. Las pruebas presentadas anteriormente, sugieren que están mejorando su condición porque están siendo alimentadas con raciones con mayores concentraciones de almidón necesarias para sus necesidades actuales de producción de leche, aumentando las concentraciones de insulina y glucosa plasmática. Bajar la concentración de almidón de la ración debería limitar la mejora de la condición corporal mientras se mantiene y posiblemente se mejora la ingesta de pienso, la producción de leche, y de la grasa láctea. La concentración óptima de almidón depende de la producción de leche del rebaño de los grupos físicos posibles, pero probablemente será del rango de 18 a 22% (DM). Se debe evitar las fuentes de almidón que son altamente fermentables (el maíz de alta humedad, restos de panadería, maíz ensilado antiguo, etc.). El maíz seco molido es una excelente fuente de almidón porque tiene menor digestibilidad ruminal (~ 50 -60%) pero una alta digestibilidad total del tracto (< 90%). La concentración de almidón en la ración de mantenimiento debe contener la suficiente, pero no excesiva, concentración de forraje NDF para mantener el DMI, y se pueden usar fuentes de fibra no-forraje (pulpa de remolacha, piensos de gluten de maíz, cascaras de soja, etc.) para diluir el almidón a la concentración deseada. La supervisión del BCS en el "dry-off" (secado) es esencial para ajustar la concentración de almidón de la dieta de mantenimiento a lo largo del tiempo.

CONCLUSIONES

Para optimizar la ingesta de alimento para las vacas lactantes se deben tomar en consideración los cambios fisiológicos que ocurren a lo largo de la lactancia y las características físicas y de la digestión de alimentos más allá de su composición nutritiva. El conocimiento del control de la ingesta de alimentos es fundamental para la formulación de la dieta y la Teoría de Oxidación Hepática puede contribuir a nuestra capacidad de formular dietas. Aunque se necesitan más investigaciones para comprender mejor la respuesta animal a las dietas, la teoría y los conceptos presentados en este documento ayudarán a formular dietas para mejorar la salud animal y la rentabilidad de las explotaciones agrícolas.

BIBLIOGRAFÍA

- Albornoz, R. I. and M. S. Allen, 2016. Diet starch content and fermentability affects feed intake and milk yield of cows in the postpartum period. J. Dairy Sci. 99 (E-Suppl. 1):355.
- Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. J. Anim. Sci. 74:3063-3075.
- Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83: 83:1598-1624.
- Allen, M. S. 2014. Drives and limits to feed intake in ruminants. Animal Production Science, 54:1513–1524.
- Allen, M.S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. J. Anim. Sci. 87: 3317-3334.
- Al-Trad, B., K. Reisberg, T. Wittek, G. B. Penner, A. Alkaassem, G. Gabel, M. Fürll, and J. R. Aschenbach. 2009. Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5645-5658.
- Andersen, J. B., N. C. Friggens, K. Sejrsen, M. T. Sorensen, L. Munksgaard, and K. L. Ingvartsen. 2003. The effects of low vs. high concentrate level in the diet on performance in cows milked two or three times daily in early lactation. Livest. Prod. Sci. 81:119-128.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2004. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2004 87: 3800-3807.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2007. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. J. Dairy Sci. 90:3838-3845.
- Dann, H. M., G. A. Varga, and D. E. Putnam. 1999. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 1765-1778.
- Dann, H. M., and B. H. Nelson. 2011. Early lactation diets for dairy cattle – focus on starch. Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Syracuse, NY.
- 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. 86:883-891.
- 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.
- Mahjoubi, E., H. Amanlou, D. Zahmatkesh, M. Ghelich Khan, and N. Aghaziarati. 2009. Use of beet pulp as a replacement for barley grain to manage body condition score in over-conditioned late lactation cows. Anim. Feed Sci. Tech. 153:60-67.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 2005. Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 88:4375-4383.

- Rockwell, R. J. and M. S. Allen. 2016. Chromium propionate supplementation during the peripartum period interacts with starch source fed postpartum: Production responses during the immediate postpartum and carryover periods. J. Dairy Sci. 99:4453-4463.
- Sadri, H., G. R. Ghorbani, H. R. Rahmani, A. H. Samie, M. Khorvash, and R. M. Bruckmaier. 2009. Chromium supplementation and substitution of barley grain with corn: effects on performance and lactation in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5411-5418.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3542-3552.
- Voelker, J. A., G. M. Burato, and M. S. Allen. 2002. Effects of pretrial milk yield on responses of feed intake, digestion, and production to dietary forage concentration. J. Dairy Sci. 85:2650-2661.

ENGLISH VERSION

Practical application of hepatic oxidation theory

Mike Allen

Department of Animal Science, Michigan State University

SUMMARY

- Feed intake is affected by the interaction of diet characteristics, physiological state of animals, and environmental stressors.
- The dominant signals controlling feed intake likely change throughout lactation. Control of feed intake is likely dominated by hepatic oxidation of non-esterified fatty acids during transition and propionate in late lactation, while ruminal distension likely controls feed intake of peak lactation cows. Thus, optimizing feed intake requires different diets through lactation (i.e. grouping cows).
- Controlling mobilization of body fat stores during transition and limiting feeds with rapidly fermented starch are keys to maximize feed intake during transition.
- Peak milk yield is maximized by feeding low-fill diets that are highly fermentable. The filling effect of diets is affected most by concentration, digestibility, and fragility of forage NDF.
- Diets should be formulated to limit starch fermentability to provide a more consistent supply of fuels as milk production declines post-peak and plasma insulin concentration and insulin sensitivity of tissues increase.

INTRODUCTION

Feed intake is determined by many interacting factors and prediction of energy intake and partitioning is the "Achilles heel" of diet formulation. Many different diet characteristics interact with environment and physiological state of cows, making it difficult to predict feed intake accurately. However, understanding the factors controlling feeding allows us to manipulate diets to optimize feed intake. Eating is controlled by the integration of peripheral signals in brain feeding centers. Dairy cow diets must contain a minimal concentration of relatively low-energy roughages for proper rumen function and signals from ruminal distension can control feed intake when the drive to eat is high and metabolic control of feed intake is diminished (e.g. cows at peak lactation). Signals derived from metabolism of fuels dominate the control of feed intake when signals from distension diminish (e.g. cows in late lactation). Therefore, effects of diet on feed intake vary with the physiological state of the animal. Furthermore, they interact with environmental stressors such as social (e.g. overcrowding) and thermal stress. The objective of this paper is to discuss factors controlling feed intake in lactating cows and how they can be manipulated to optimize feed intake. "Optimal" feed intake might mean the maximum to attain higher milk yields for high-producing cows or less than maximum to increase efficiency of feed conversion for lower producing cows.

HEPATIC OXIDATION THEORY (HOT)

There is a large body of evidence (mostly in non-ruminant species) that food intake is controlled by oxidation of fuels in the liver. This has been reviewed previously (Allen *et al.*, 2009; Allen, 2014) and will be only briefly discussed here. The liver is "hardwired" to feeding centers in the brain via the hepatic vagus nerve. Feeding behavior is controlled by the firing rate of the nerve, which is determined by oxidation of fuels in the liver; increased firing rate is associated with hunger, and decreased firing rate is associated with satiety. Feeding behavior has been linked to ATP (a form of energy currency within cells) concentration in the liver with satiety occurring as fuels are oxidized and ATP is produced, and hunger occurring as oxidation decreases and ATP is depleted. Fuels oxidized in the liver include fatty acids (from the diet or mobilized from body reserves), propionate (produced by microbial fermentation in the gut), lactate (produced by muscle and gut tissues from glucose), and amino acids (from protein degradation). It is important to realize that the pattern of oxidation of fuels (minute to minute) is what affects feeding behavior because the amount of oxidation over longer periods of time (hours or days) is relatively constant.

PHYSIOLOGICAL CHANGES THROUGH LACTATION

Because fatty acids are readily oxidized in the liver, the supply of non-esterified fatty acids (NEFA) from mobilization of body fat reserves likely suppresses feed intake in the transition period. The degree of fat mobilization is affected by changes in plasma insulin concentration and sensitivity of tissues to insulin. Plasma insulin concentration signals tissues to synthesize fat if elevated, or mobilize fat if lowered. Changes in sensitivity of tissues to insulin through the lactation cycle modify this signal; decreased sensitivity (increased resistance) results in greater fat mobilization and increased sensitivity results in lesser fat mobilization at the same insulin concentration. Plasma insulin concentration decreases 50% or more by calving, beginning several weeks prepartum. Plasma NEFA concentration increases because fat is mobilized in response to decreased plasma insulin concentration. In addition, tissue sensitivity to insulin decreases in late pregnancy contributing to increased fat mobilization. Decreased plasma insulin concentration and sensitivity help the cow maintain constant plasma glucose concentration despite declining feed intake in the last week or so before calving. This is because utilization of glucose by tissues decreases, and utilization of NEFA by muscle increases, sparing glucose.

Plasma glucose concentration drops precipitously at calving and partially recovers over the course of the next several weeks as DMI and gluconeogenesis in the liver increase. Plasma insulin concentration and sensitivity of tissues to insulin remain low in early lactation so plasma NEFA concentration remains elevated for several weeks or more. The elevated NEFA concentration provides energy to tissues when plasma glucose and insulin concentrations are low. The length of

time that NEFA remains elevated varies greatly among cows and depends upon the rate of mobilization and removal from the blood by the liver and mammary gland. Transfer of NEFA to milk fat by the mammary gland is highly desirable because storage of NEFA as triglycerides in the liver results in fatty liver, compromising glucose production, and oxidation of NEFA in the liver likely decreases feed intake according to HOT. This, in turn, delays the increase in plasma glucose concentration following calving, extending intake suppression. This is because glucose stimulates insulin secretion by the pancreas, and plasma insulin concentration remains low, extending the period of fat mobilization, and therefore extending the period that feed intake is suppressed by oxidation in the liver. In addition, low plasma glucose likely limits milk yield because glucose is required by the mammary gland for the production of milk lactose, the primary determinant of milk volume.

Hepatic oxidation of NEFA is a two-stage process; long carbon chains of fatty acids are partially oxidized to acetyl CoA, a two-carbon molecule, which is either completely oxidized or exported as ketones. The ability of the liver to completely oxidize NEFA is limited, so ketones are exported and their concentration in plasma is elevated when fat mobilization is high. Ketones can be beneficial because they can be used by some tissues for energy, sparing glucose, but can cause keto-acidosis if concentrations are very high.

Further increases in lipolysis following parturition, combined with higher starch diets, likely suppress feed intake because rapid production and absorption of propionate stimulates oxidation of acetyl CoA (see below). Because feed intake of fresh cows is likely controlled primarily by hepatic oxidation, diets with moderately high forage fiber concentrations might benefit cows. Forage fiber increases rumen fill, decreasing the risk of abomasal displacement, and increases acetate production, sparing glucose utilization by extrahepatic tissues. Starch sources with moderate ruminal fermentability and high digestibility in the small intestine such as dry ground corn will likely provide more glucose precursors by increasing feed intake.

Milk yield increases rapidly following parturition and, over the next several weeks, increasing plasma glucose stimulates insulin secretion, thereby decreasing lipolysis and plasma NEFA concentration. Because fewer NEFA are available for oxidation, the acetyl CoA concentration in the liver decreases, decreasing ketone output by the liver. Lack of acetyl CoA and high glucose demand limit ATP accumulation in the liver, and satiety signals to the brain decrease. As milk yield increases further and feed intake control by hepatic oxidation diminishes, control is dominated by distension from gut fill and cows should be offered a diet that is less filling and more fermentable. This change in the dominant mechanism of intake regulation might occur only 7 to 10 days after calving for some cows in the herd or more than 3 weeks for others; the best signs that hepatic oxidation is less limiting are lower plasma NEFA and ketone concentrations and steadily increasing feed intake.

As energy requirements decrease following peak milk yield, control of feed intake by gut distension gradually diminishes and control by hepatic oxidation increases. Plasma insulin concentration and sensitivity of tissues to insulin increase as lactation progresses and affect the feed intake response to highly fermentable diets. Higher plasma insulin concentrations that are indicative of adequate nutritional status likely provide negative feedback on hepatic gluconeogenesis. This relationship is consistent with HOT because decreased use of propionate for glucose production leads to greater propionate oxidation and decreased feed intake. Individual cows with an adequate supply of glucogenic precursors may respond to a further increase in supply by decreasing DMI. Greater sensitivity of tissues to insulin likely increases clearance of fuels from the blood sooner, partitioning more energy to body reserves and decreasing the interval between meals.

OPTIMIZING FAT MOBILIZATION

Plasma NEFA are used as an energy source by maternal and fetal tissues, thereby sparing glucose, and also enrich the fat content of milk. However, elevated NEFA might depress feed intake and suppress immune function. To limit plasma NEFA concentrations, rate of fat mobilization must be controlled. Rate of fat mobilization is dependent upon the amount of fat reserves available for mobilization as well as insulin concentration, tissue sensitivity to insulin, and stress. The importance of controlling body condition at calving is well recognized. Cows with excessive body condition generally mobilize fat very rapidly through transition because their tissues are more insulin resistant and they have greater fat stores to mobilize. Therefore it is very important to manage body condition to limit over-conditioned cows by reproductive management, grouping lactating cows, diet formulation, etc. Allowing cows to consume more energy than required during the dry period results in increased NEFA concentrations in early lactation (Holtenius *et al.*, 2003). Controlling energy intake by feeding high-fill diets during this relatively short period might reduce depots of readily mobilized fat reducing the rate of fat mobilization after calving. Fat mobilization will be reduced by increasing sensitivity of fat tissues to insulin (decreasing insulin resistance). Niacin decreases fat mobilization but likely needs to be supplemented at higher concentrations than currently recommended unless provided in a protected form. Chromium has been shown to increase insulin sensitivity and supplemental chromium has been demonstrated to decrease plasma NEFA concentrations in lactating cows. A more rapid increase in plasma glucose following calving will likely increase insulin and decrease NEFA concentrations sooner. However, increasing insulin sensitivity of fat tissue is preferable to increasing insulin concentration because insulin can reduce glucose production by the liver. Hormones released during stress increase fat mobilization, elevating plasma NEFA concentration further. Therefore, great attention should be paid to reducing all potential stressors of cows including stressful interactions with farm workers, management procedures, and facilities (e.g. bedding, ventilation, bunk space).

ROLE OF PROPIONIC ACID

Propionic acid, produced by microbial fermentation in the gut, is a primary fuel controlling feed intake in ruminants fed diets containing high grain concentrations. It is a primary endproduct of starch fermentation, and production rates vary greatly among diets. While propionic acid is produced in the rumen, once absorbed into the blood it is in its ionic form as propionate. Propionic acid can be produced and absorbed at very high rates and propionate is rapidly taken up by the liver, where it is a major fuel used to produce glucose. However, when it is absorbed faster than it can be utilized to produce glucose in the liver, it will stimulate ATP production to a greater extent resulting in a satiety signal sooner. The capacity of the liver to produce glucose is affected by glucose demand (the difference between glucose required and glucose produced) because limiting enzymes in the liver are up-regulated to meet demand. Because of this, propionate is less likely to be oxidized

(and decrease feed intake) at peak lactation when glucose demand is high, than in late lactation when glucose demand is lower. Although propionate might be expected to have little effect on feed intake of fresh cows because they have high glucose demand, propionate also stimulates oxidation of acetyl CoA. Fresh cows have a large supply of acetyl CoA in the liver from partial oxidation of NEFA. Some acetyl CoA is exported as ketone bodies, but it is also readily oxidized when propionate is taken up by the liver, quickly generating ATP and a satiety signal (see Allen, 2014 for more details). This is an apparent conundrum: propionate is a primary fuel used to produce glucose, which is needed to increase insulin and decrease NEFA, thereby alleviating the depression in feed intake by NEFA oxidation in fresh cows, but propionate suppresses feed intake by stimulating oxidation of acetyl CoA in fresh cows. However, there are diet formulation options that help prevent the depression in feed intake, including manipulating the rate of propionate production to extend meal length, supplying other glucose precursors that stimulate oxidation of acetyl CoA to a lesser extent, and providing alternate energy sources for tissues to spare glucose. The goal is to maximize the amount of glucose produced or spared per unit of ATP generated in the liver over time. Manipulating the pattern of oxidation of fuels in the liver can increase plasma glucose and insulin concentrations, decreasing fat mobilization and the period of time feed intake is suppressed by oxidation of NEFA in the liver.

ALTERING PROPIONATE FLUX TO THE LIVER

Rate of propionate production can be decreased by reducing starch concentration and fermentability which are discussed below.

Dietary Starch Concentration Starch concentration of diets is often reduced by substituting forage or non-forage fiber sources (NFFS) such as beet pulp or soyhulls for cereal grains. Dilution of starch in the diet has the added benefit of reducing the fermentation rate of the starch remaining when starch concentration is decreased by adding forage or NFFS, reducing the rate of propionic acid production. The optimal strategy depends upon the relative cost of ingredients, efficiency of feed utilization, and animal production response. For instance, longer fiber particles from forage compared to NFFS might increase fiber digestibility by increasing ruminal pH through stimulation of rumination and by increasing ruminal retention and therefore buffering capacity of the rumen digesta. However, forage fiber is very filling and forages might limit feed intake compared to NFFS. Therefore, when ruminal distension contributes to the control of feed intake, substitution of NFFS for grain might be a better choice than substitution of forage.

Site of Starch Digestion Substitution of a less fermentable starch source is an option when feed intake is depressed by a rapidly fermented starch source. Altering dietary starch fermentability will likely be more desirable than replacing starch with fiber for ruminants with high glucose demand, such as early lactation cows, because postruminal starch digestion yields more glucose precursors than ruminal fermentation of fiber. It is important to note that the fraction of glucose precursors provided by starch fermentation in the large intestine is much lower than in the rumen or small intestine because microbial cells containing starch are lost in the feces. Therefore, careful consideration of site of starch digestion is very important to maximize the yield of glucose precursors over time. Starch sources with lower ruminal digestibility should be highly digestible in the small intestine to provide the greatest yield of glucose precursors. For instance, dry ground and cracked corn both slow the rate of propionic acid production in the rumen compared with high moisture corn, but the ground corn will provide more glucose precursors because of greater digestibility in the small intestine and total tract.

Effects of Ration Starch Content and Fermentability on DMI

Substitution of a more fermentable starch source for a less fermentable starch source dramatically reduced DMI of cows past peak lactation in several studies but had no effect on DMI in other studies (Allen, 2000). Increasing the starch content of the ration offered to lactating cows from ~23 to ~34% (~24 to 16% forage NDF, respectively) resulted in variable effects on DMI and FCM yield depending upon the milk yield of cows (range in FCM: ~50 to ~130 lb/d); DMI response to the high-starch, low forage NDF ration increased linearly with increasing milk yield of cows throughout the range while FCM response increased only for cows above ~90 lb/d of FCM (Voelker *et al.*, 2002). Response for DMI was likely because the higher starch diet was less filling (16% forage NDF) and rumen fill is a greater limitation to feed intake as milk yield increases (Allen, 1996), while response for FCM likely depended upon effects of the ration on digestibility and energy partitioning among cows.

The physiological state of animals determines the effects of starch fermentability on DMI (Bradford and Allen, 2007) and production (Bradford and Allen, 2004) responses. High moisture corn compared with dry ground corn had opposite effects on milk yield for cows depending on initial milk yield, with no change for the group overall; high moisture corn increased concentration of milk fat and yield of FCM for cows producing over ~90 lb/day but decreased both for cows producing less than that amount (Bradford and Allen, 2004). Effect of treatment on DMI was not related to milk yield but was affected by physiological state of cows; depression in DMI by the high moisture corn compared with the dry corn treatment was related to plasma insulin concentration and insulin response to a glucose challenge (Bradford and Allen, 2007). Feed intake of cows with greater insulin concentration, and lower insulin response to a glucose challenge, was depressed to a greater extent by high moisture corn compared with dry ground corn. As lactation proceeds and milk yield declines, feed intake is increasingly dominated by metabolic signals. Highly fermentable diets often decrease feed intake in mid to late lactation, likely from stimulation of hepatic oxidation by propionate (Allen *et al.*, 2009). Reducing ruminal fermentability of starch by substituting dry corn for high moisture corn in rations often increases energy intake and partitioning to milk for these cows.

Several experiments have fed diets differing in starch content in the postpartum period (Andersen *et al.*, 2003; Rabelo *et al.*, 2005; Dann and Nelson, 2011). Increasing diet starch content increased DMI and milk yield in experiments reported by Andersen *et al.* (2003) and Rabelo *et al.* (2005) but in those experiments grains were substituted for forage, increasing the forage NDF content of the diet. Forage NDF is very filling (Allen, 2000) and large increases in the forage NDF content of diets in these studies likely contributed to satiety by increasing ruminal distention, especially as lactation progressed and the lipolytic state diminished. Dann and Nelson (2011) substituted corn meal for non-forage fiber sources to increase diet starch content from 21% to 25.5% and the higher starch diet decreased DMI 1.5 kg/d. Non-forage fiber sources are much less filling than forage NDF (Allen, 2000) so the filling effects of the treatment diets were likely much more similar in that experiment than when grains are substituted for forage. Several experiments have evaluated the effects of ruminal

fermentability of starch in diets fed to cows in the postpartum period (Dann *et al.*, 1999; Sadri *et al.*, 2009; Rockwell and Allen, 2016). Increasing ruminal starch fermentability by substituting steam-flaked corn for cracked corn tended to decrease DMI by more than 1 kg/d over the first 63 d postpartum although interactions with time were not reported and greater ruminal fermentability would be expected to have a greater effect in the first few weeks of lactation (Dann *et al.*, 1999). Sadri *et al.* (2009) compared grains varying in ruminal starch fermentability through the transition period and the more fermentable barley treatment decreased DMI compared with corn during both the prepartum and postpartum periods. While substitution of high moisture corn for dry corn did not affect DMI by cows in the postpartum period in another study (Rockwell and Allen, 2016), feed intake was likely limited by distention because the diet was very filling at 27% forage NDF. We recently reported a study in which we evaluated the effects of ration starch content (22% vs 28%) and starch fermentability (high moisture corn vs dry corn) with cows in the postpartum period (Albornoz and Allen, 2016). High moisture corn decreased DMI and fat-corrected milk 4.8 and 11 lbs/d, respectively, while ration starch content had no effect during the first 23 d of lactation. Faster propionic acid production during meals likely caused satiety sooner for the more fermentable starch source, decreasing feed intake and milk yield. These results are consistent with our expectations according to the hepatic oxidation theory of the control of feed intake (Allen *et al.*, 2009).

GUT FILL

As feed intake increases in early lactation, control of feed intake is dominated by ruminal distention and the extent to which ruminal distention limits feed intake is linearly related to milk yield (Voelker *et al.*, 2002). Following the fresh period, high producing dairy cows should be fed diets with lower filling effect to maximize feed intake. The filling effect of a diet is determined primarily by the initial bulk density of feeds as well as their filling effect over time in the rumen. The overall filling effect is determined by forage NDF content, forage particle size, fragility of forage NDF determined by forage type (legumes, perennial grasses, annual grasses), and NDF digestibility within a forage family (Allen, 2000). Forage NDF is less dense initially, digests more slowly, and is retained in the rumen longer than other diet components. Feed intake of high producing cows is often dramatically reduced by increasing the forage NDF concentration of the diet. Several studies in the literature reported a decrease in DMI of up to 4 kg/d when diet NDF content was increased from 25 to 35% by substituting forages for concentrates. Although most studies reported a significant decrease in DMI as forage NDF increased, the responses in DMI have been variable variable, depending upon the degree to which intake was limited by ruminal fill. Higher producing cows are limited by fill to the greatest extent and the filling effect of forage fiber varies depending upon particle size and fermentation characteristics.

While ruminal distention becomes a primary limitation to feed intake as milk yield increases, it likely has little effect on feed intake during the transition period if feed intake is controlled primarily by oxidation in the liver unless the ration has high forage NDF content. Diets can be formulated to meet requirements for energy and nutrients with large differences in the amount and turnover rate of ruminal digesta. Formulating diets to maintain gut fill with ingredients that are retained in the rumen longer, and have moderate rates of fermentation and high ruminal digestibility will likely benefit transition cows several ways. The ruminal digesta will provide more energy over time when feed intake decreases at calving or from metabolic disorders or infectious disease. This will help maintain plasma glucose concentration and prevent even more rapid mobilization of body reserves compared to when diets are formulated with ingredients that disappear from the rumen quickly. Ruminal digesta is very important to buffer fermentation acids and buffering capacity is directly related to the amount of digesta in the rumen. Therefore, diets formulated with ingredients that increase the amount of digesta in the rumen will have greater buffering capacity and will maintain buffer capacity longer if feed intake decreases. Inadequate buffering can result in low ruminal pH, decreasing fiber digestibility and acetate production, and increasing propionate production, possibly stimulating oxidation in the liver and decreasing feed intake. Low ruminal pH also increases risk of health problems such as ruminal ulcers, liver abscess, and laminitis, and causes stress, likely increasing mobilization of body reserves even further. Diets formulated with ingredients that maintain digesta in the rumen longer when feed intake decreases will likely decrease risk of abomasal displacement.

Energy partitioning

As lactation proceeds past peak lactation, insulin concentration and sensitivity of tissues gradually increase and energy is increasingly partitioned to body condition. While cows around peak lactation respond well to rations with high starch content, cows in late lactation do not. Substitution of fiber for starch greatly alters fuels available for intermediary processes and often results in greater partitioning of energy to milk rather than body condition. Substitution of soyhulls for dry ground corn up to 40% of diet DM increased milk fat percent (linearly from 3.60 to 3.91%) and decreased body weight gain (linearly from 1.02 to -0.14 kg/d) with no effect on milk yield (~29 kg/d) and a slight decrease in DMI (tendency, linearly from 23.8 to 22.7 kg/g, Ipharraguerre *et al.*, 2002). Beet pulp decreased BCS without decreasing yields of milk or milk fat when substituted for high-moisture corn up to 12% of diet DM (Voelker and Allen, 2003). An experiment conducted with cows in the last 2 months of lactation showed that substitution of beet pulp for barley grain linearly decreased body condition score and back fat thickness, maintained milk yield and linearly increased milk fat yield and milk energy output (Mahjoubi *et al.*, 2009). Decreased body condition score and increased milk fat yield might have been because of a linear decrease in plasma insulin concentration which linearly increased plasma NEFA concentration. Lastly, intravenous glucose infusion of up to 30% of net energy requirement linearly increased plasma insulin, energy balance, body weight and back fat thickness, without affecting DMI or milk yield of mid-lactation cows (Al-Trad *et al.*, 2009).

Recommendations

Fresh Cow Ration (parturition to ~10-14 days postpartum) Fresh cows in a lipolytic state are at increased risk for metabolic disorders, and feed intake is likely controlled by oxidation of fuels in the liver (Allen *et al.*, 2009). These cows require glucose precursors and rations should contain higher starch concentrations to the extent possible. However, they also have lower rumen digesta mass, which increases risk for lower ruminal pH and displaced abomasum. Highly fermentable starch sources increase propionic acid production, which can stimulate oxidation of fuels in the liver, suppressing feed intake (Allen *et al.*, 2009). Therefore, highly fermentable starch sources should be limited during this period which lasts up to two weeks for most cows but even longer for cows under

stress or with excessive body condition at parturition. Highly fermentable starch sources such as wheat, barley, low-density steam-flaked corn, and aged (greater than 1 year old) high moisture corn and corn silage, should be limited to allow greater starch concentrations (and glucose precursors) with less risk of acidosis or displaced abomasum. Supplementing corn silage based diets with dry ground corn works well for this ration with a total starch concentration of 28% (DM basis) or possibly more depending upon the fermentability of starch in the corn silage. Because feed intake is less limited by ruminal distention during this period, and greater rumen digesta mass is desirable, forage NDF concentration should be ~ 23% and use of non-forage fiber sources should be limited to diluting starch concentration, if necessary. Starch concentrations must be decreased when feeding highly fermentable starch sources.

Early to Mid-Lactation Ration Cows in early to mid-lactation have high glucose requirement for milk production and partition relatively little energy to body reserves. They respond well to rations with lower forage NDF concentration (low fill) and highly fermentable starch. Starch concentration of rations should be in the range of 25 to 30% (DM basis) although the optimum concentration is dependent upon competition for bunk space, forage/effective NDF concentration, and starch fermentability. Higher starch, lower fill rations generally increase peak milk yield and decrease loss of body condition in early lactation. However, once cows replenish body condition lost in early lactation, they should be switched to a maintenance diet with lower starch concentration and ruminal fermentability.

Maintenance Ration (> 150 DIM and BCS of 3) The maintenance ration is the key component of a ration formulation/ grouping system to increase health and production of cows. The goal of the maintenance ration is to maintain milk yield and body condition through the rest of lactation. Cows should be offered the maintenance ration when they are regaining BCS and reach a BCS of 3. If they continue receiving a high starch diet, BCS will continue to increase and they will be at increased risk for metabolic disease following parturition. Evidence presented above suggests that they are gaining condition because they are being fed rations with greater starch concentrations needed for their current requirement for milk production, increasing plasma glucose and insulin concentrations. Lowering ration starch concentration should limit body condition gain while maintaining and possibly improving feed intake and yields of milk and milk fat. The optimal concentration of starch is dependent upon the milk yield of the herd and physical groups possible but will likely be in the range of 18 to 22% (DM basis). Starch sources that are high fermentable (high-moisture corn, bakery waste, aged corn silage, etc.) should be avoided. Dried ground corn is an excellent starch source because it has lower ruminal digestibility (~50-60%) but high total tract digestibility (< 90%). The starch concentration of the maintenance ration should contain adequate, but not excessive forage NDF concentration to maintain DMI, and non-forage fiber sources (beet pulp, corn gluten feed, soyhulls, etc.) can be used to dilute starch to the target concentration. Monitoring BCS at dry-off is essential to adjust the starch concentration of the maintenance diet over time.

CONCLUSIONS

Consideration of physiological changes occurring through lactation and the physical and digestion characteristics of feeds beyond their nutrient composition is required to optimize feed intake for lactating cows. Understanding the control of feed intake is critical to diet formulation and the Hepatic Oxidation Theory can contribute to our ability to formulate diets. While more research is needed to better understand animal response to diets, the theory and concepts presented in this paper will help to formulate diets to improve animal health and farm profitability.

REFERENCES

- Albornoz, R. I. and M. S. Allen, 2016. Diet starch content and fermentability affects feed intake and milk yield of cows in the postpartum period. J. Dairy Sci. 99 (E-Suppl. 1):355.
- Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. J. Anim. Sci. 74:3063-3075.
- Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83: 83:1598-1624.
- Allen, M. S. 2014. Drives and limits to feed intake in ruminants. Animal Production Science, 54:1513–1524.
- Allen, M.S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. J. Anim. Sci. 87: 3317-3334.
- Al-Trad, B., K. Reisberg, T. Wittek, G. B. Penner, A. Alkaassem, G. Gabel, M. Fürll, and J. R. Aschenbach. 2009. Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5645-5658.
- Andersen, J. B., N. C. Friggens, K. Sejrsen, M. T. Sorensen, L. Munksgaard, and K. L. Ingvartsen. 2003. The effects of low vs. high concentrate level in the diet on performance in cows milked two or three times daily in early lactation. Livest. Prod. Sci. 81:119-128.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2004. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2004 87: 3800-3807.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2007. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. J. Dairy Sci. 90:3838-3845.
- Dann, H. M., G. A. Varga, and D. E. Putnam. 1999. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 1765-1778.
- Dann, H. M., and B. H. Nelson. 2011. Early lactation diets for dairy cattle – focus on starch. Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Syracuse, NY.
- 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. 86:883–891.
- 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.
- Mahjoubi, E., H. Amanlou, D. Zahmatkesh, M. Ghelich Khan, and N. Aghaziarati. 2009. Use of beet pulp as a replacement for barley grain to manage body condition score in over-conditioned late lactation cows. Anim. Feed Sci. Tech. 153:60-67.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 2005. Effects of pre- and postfresh transition diets

varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 88:4375–4383.

- Rockwell, R. J. and M. S. Allen. 2016. Chromium propionate supplementation during the peripartum period interacts with starch source fed postpartum: Production responses during the immediate postpartum and carryover periods. J. Dairy Sci. 99:4453–4463.
- Sadri, H., G. R. Ghorbani, H. R. Rahmani, A. H. Samie, M. Khorvash, and R. M. Bruckmaier. 2009. Chromium supplementation and substitution of barley grain with corn: effects on performance and lactation in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5411-5418.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3542-3552.
- Voelker, J. A., G. M. Burato, and M. S. Allen. 2002. Effects of pretrial milk yield on responses of feed intake, digestion, and production to dietary forage concentration. J. Dairy Sci. 85:2650-2661.

MEJORAR LA EFICIENCIA DE LA ALIMENTACIÓN EN NOVILLAS LECHERAS

Jud Heinrichs

Departamento de Ciencia Animal, Pennsylvania State University

La mejora la eficiencia de los piensos en novillas puede lograrse aumentando la digestibilidad de la dieta, mejorando la digestibilidad de la fibra del forraje (NDF), estimulando la digestión microbiana ruminal, optimizando -no maximizando- el consumo de alimento, manteniendo al animal en un ambiente adecuado, manteniendo la novilla en un estado óptimo de salud y de gestión, y manteniendo tasas de crecimiento óptimo.

INTRODUCCIÓN

Las novillas lecheras representan un gran gasto de recursos, incluyendo el alimento, las instalaciones, y la mano de obra, sin embargo no generan ingresos para la explotación lechera hasta que paren. El objetivo general de la crianza de novillas debe ser minimizar los costes al tiempo que sigue maximizando la rentabilidad de los costes incurridos. Las prácticas de gestión deben dar novillas de la mejor calidad con el potencial más alto para ser productivas y rentables y minimizar el coste de la granja y el medio ambiente sin que ello afecte al bienestar de los animales.

La alimentación representa el mayor componente del coste de producción de vaquillas y es una proporción tan grande que representa claramente el principal medio para controlar los costes de las mismas. Los estudios han demostrado que los costos de alimentación de una novilla pueden representar hasta un 60% de gastos del animal y un 12% del total de los gastos de la granja.

A menudo se nos recuerda la importancia de la eficiencia de la alimentación (lbs leche/lb alimentación) para la alimentación de vacas lecheras lactantes que pueden afectar a los costes e ingresos, sin embargo, el concepto es raramente mencionado en relación con las novillas en crecimiento. También debemos recordar que los animales lecheros pasan más de la mitad de su vida en la mayoría de las granjas como animales de reemplazo, lo que significa que la eficacia de su alimentación es crítica para la rentabilidad global de la explotación agrícola.

Medimos la eficiencia de los piensos para las novillas en libras de ganancia por libra de alimento. Esta publicación discutirá algunos de los muchos factores que pueden afectar a la eficiencia de los piensos en las novillas lecheras, incluyendo: la genética, la calidad del forraje (fibra y la digestibilidad de la materia seca), el consumo de alimento, la tasa de crecimiento o la etapa del crecimiento, la condición del cuerpo o cambios en la composición corporal, la gestación, el estrés por calor o frío (estrés ambiental), y el nivel de ejercicio.

Genética

La genética juega un papel importante en la eficiencia de los piensos en dos aspectos. En primer lugar, existe un componente genético de eficiencia, por el cual algunos animales son más eficientes en la conversión de energía de alimentación en energía productiva, ya sea en el crecimiento de músculos y huesos, o la producción de leche. Además, la genética en relación al tamaño del cuerpo es importante, ya que un aumento en el tamaño del cuerpo aumentará los costes de mantenimiento de energía, proteína, y la mayoría de otros nutrientes importantes. Cuanto menor sea el peso corporal de la ternera en una edad determinada, menores son los requisitos de mantenimiento de ese animal. Dicho esto, la vaca debe ser lo suficientemente grande para el ciclo de cría y, lo que es más importante, lo suficientemente grande como para parir correctamente; ambos a la edad apropiada. El peso corporal adecuado, la calificación de su condición corporal, y la altura estructural de las novillas son esenciales para lograr el objetivo de la gestión de cría de novillas productivas y rentables. Por lo tanto, el crecimiento en una edad determinada no puede quedar comprometido en aras de mejorar la eficiencia de los piensos.

La capacidad de las novillas de utilizar eficientemente la alimentación disminuye con la edad. Antes de la pubertad, el crecimiento de la novilla es principalmente óseo y muscular, pero después de la pubertad las novillas ganan más grasa en relación a los huesos y músculos y son por lo tanto menos eficientes con la alimentación. Se puede defender la idea de que se debe alcanzar un estado estable de crecimiento desde el nacimiento hasta el primer celo, seguido por una segunda tasa de crecimiento después de la cría para lograr el peso corporal deseado para el parto. La investigación ha demostrado que antes de la pubertad, las novillas Holstein deben crecer en torno al 1,8 lbs/día para maximizar la producción de leche en la primera lactancia.

Una vez que una novilla ha alcanzado la pubertad (9 a 10 meses de edad para las novillas Holstein) la tasa de crecimiento no afecta el desarrollo mamario y se debe considerar el siguiente punto de control crítico - el peso corporal en el momento del parto. De nuevo, sabemos por la investigación que las novillas lecheras necesitan llegar a, o acercarse a, el 85% del peso corporal de las vacas maduras de su rebaño en el primer parto. Si esto no se cumple, entonces, las novillas de primer parto van a gastar un exceso de energía en el crecimiento durante la primera lactancia en detrimento de la producción de leche. Las novillas que son pequeñas en relación a su tamaño maduro tendrán disminuida dramáticamente la eficiencia de alimentación en su primera lactación ya que seguirán creciendo, no produciendo leche. Este fenómeno es una respuesta biológica al retraso del crecimiento antes del parto. Además, las novillas que están en el último tercio de la gestación serán menos eficientes en relación al alimento ya que el feto y los tejidos afines estarán sacando más energía y proteína dietética para apoyar el rápido crecimiento fetal. Las novillas que no hayan llegado a un tamaño adecuado a la edad de criar corren también un mayor riesgo de tener dificultades a la hora de parir a sus terneros, lo que tiene consecuencias negativas tanto para la vaca como para el ternero.

Medio ambiente

El estrés ambiental y el ejercicio son factores adicionales que afectan a los requisitos de mantenimiento y por lo tanto tendrán efectos directos sobre la eficiencia de la alimentación de la novilla. En este caso nos encontramos con que cualquier entorno o sistema de alojamiento que incluya establos bien gestionados y cómodos mejorará la eficiencia debido a que tienen menores costes de mantenimiento. Sin embargo, cualquier establo que permite que las novillas estén sucias y mojadas o permite a los animales pasar frío o calor disminuirá la eficiencia del alimento

debido al aumento de la energía de mantenimiento necesario para mantener una temperatura corporal normal.

El ejercicio también tiene efectos, que suelen ser pequeños, pero pueden ser grandes si las novillas tienen que caminar largas distancias de forma regular. En general, dado que las novillas en pastoreo gastan más energía al comer, su eficiencia de alimentación también será algo menor.

Dieta

Un último aspecto importante en relación a la eficiencia de la alimentación es la dieta; tanto la cantidad de alimento y los ingredientes en la ración pueden influir en la eficiencia de los piensos. La mayor digestibilidad de la dieta permitirá que la novilla sea más eficiente en relación a la alimentación. Por lo tanto en la dieta típica de una novilla, que es en su mayoría de forraje, la calidad del forraje y la digestibilidad de la fibra pueden influir mucho en la eficiencia de la alimentación. Además, la sustitución de forraje por concentrado mejora la eficiencia de la alimentación hasta un punto, porque los cereales y derivados suelen tener mejor digestibilidad que los forrajes. Además, cuando se alimenta a las novillas con alimentos de mayor digestibilidad la cantidad de alimento seco necesarios para cumplir el objetivo de la ganancia de peso es menor, lo que resulta en una menor cantidad de energía de mantenimiento necesaria para los distintos procesos de digestión en el animal.

Cuando se alimenta a los animales con dietas más densas en nutrientes y, por tanto, menos materia seca en total por día, la tasa de paso de los alimentos fuera del rumen es reducida, permitiendo que las bacterias y los protozoos del rumen tengan más tiempo para romper las fibras y materia orgánica. Esto permite que los alimentos altamente digestibles y forrajes sean digeridos aún más, a menudo mejorando la digestibilidad de la materia seca total en 4 a 6% más de lo que normalmente se espera utilizando valores de los manuales de los alimentos.

El aumento en la digestibilidad de raciones más densas en nutrientes con un menor consumo de materia seca tiene el beneficio añadido de menor producción de estiércol. Esta reducción es positiva para el medio ambiente y ahorra tiempo y dinero a los productores, ya que hay menos estiércol que transportar. Por supuesto, cualquier exceso de nitrógeno o minerales en estas dietas de mayor digestibilidad y la eficiencia de la alimentación seguirá siendo excretada, sin embargo los nutrientes en el estiércol serán más concentrados debido a la menor cantidad de heces excretadas.

Valores típicos de la eficiencia de la alimentación para terneras y novillas (alimentar para ganar; DMI para ADG)

- Los terneros de leche 2:1 a 2,5:1
- Las terneras destetadas (25% forraje) 3:1 a 4:1.
- Las novillas jóvenes (50%) de forraje de alta calidad 4:1
- Las novillas en TRM 6:1 a 7:1
- Novillas más viejas (forraje pobre) 8:1 o más (ha mostrado ser 15:1 en algunos casos).

Las novillas de un año que toman los alimentos de alta calidad y forrajes pueden tener fácilmente una relación de 5:1 en alimentos para ganar peso, pero esto puede disminuir al 8:1 o más en las dietas de alto forraje menos digeribles. En la investigación de Wisconsin se dio un ejemplo para permitir que los piensos se digieran durante más tiempo en el rumen al tener animales con una alimentación incompleta. En este estudio las novillas alimentadas con una cantidad controlada, el 80% de las ingestas ad-lib, mostraron un 29% de mejora en la eficiencia de la alimentación en comparación a las novillas a las que se permitió comer tanto como quisieran. Además, las novillas alimentadas con una cantidad controlada producen aproximadamente 2 libras menos estiércol (base materia seca) cada día que las novillas que son alimentadas ad-lib.

Un último punto es que unos pocos aditivos que mejoran la función ruminal y la digestión microbiana han demostrado que mejoran la eficiencia de la alimentación de las novillas. Estos incluyen ionoforos y levadura, ambos pueden afectar la alimentación y/o la digestibilidad del forraje.

RESUMEN

La mejora la eficiencia de los piensos en novillas puede lograrse aumentando la digestibilidad de la dieta, aumentando la digestibilidad de la fibra del forraje (NDF), estimulando la digestión microbiana ruminal, optimizando - que no maximizando - el consumo de alimento, manteniendo al animal en un ambiente adecuado, manteniendo la novilla en un estado óptimo de salud y gestión, y manteniendo tasas de crecimiento óptimas. Por último, la genética puede jugar un papel importante en la eficiencia de la alimentación.

ENGLISH VERSION

Improving feed efficiency in dairy heifers

Jud Heinrichs

Animal Science Department, The Pennsylvania State University

Improving feed efficiency in heifers can be accomplished by increasing diet digestibility, increasing forage fiber (NDF) digestibility, stimulating rumen microbial digestion, optimizing–not maximizing–feed intake, maintaining the animal in an adequate environment, maintaining the heifer in optimal health and management, and maintaining optimal growth rates.

INTRODUCTION

Dairy heifers represent a large expense of resources including feed, buildings, and labor, yet return no money to the dairy farm until they calve or are sold. The overall objective in raising heifers must be to minimize costs while still maximizing the returns on the costs incurred. Management practices must yield the best quality heifers with the highest potential to be productive and profitable and minimize cost to the farm and the environment without affecting heifers' well being.

Feed represents the largest component to the cost of heifer production and is such a large proportion that it clearly represents the major way to control heifer costs. Studies have shown that heifer feed costs may represent up to 60% of heifer expenses and 12% of total farm expenses.

We are often reminded of the importance of feed efficiency (lbs milk/lb feed) for lactating dairy cows as it may affect costs and income, yet the concept is seldom mentioned for the growing heifer. We also need to remember that dairy animals spend over half of their life on most farms as a replacement animal, which means that their feed efficiency is critical to the overall farm profitability.

We measure feed efficiency for heifers in pounds of gain per pound of feed. This publication will discuss some of the many factors that can impact feed efficiency in the dairy heifer, including: genetics, forage quality (fiber and dry matter digestibility), feed intake level, growth rate or stage of growth, body condition or change in body composition, gestation, heat or cold stress (environmental stresses), and exercise level.

Genetics

Genetics plays a role in feed efficiency in two aspects. First, there is a genetic component of efficiency, whereby some animals are more efficient at converting feed energy into productive energy, whether that is growth of muscle and bone or milk production. In addition, genetics in relation to body size are important since an increase in body size will increase maintenance costs for energy, protein, and most other major nutrients. The smaller the body weight of the heifer at a given age, the lower the maintenance requirements of that animal. This being said, the heifer must be large enough to cycle for breeding purposes and, more importantly, large enough to calve successfully; both at appropriate ages. Adequate body weight, body condition score, and structural height of heifers are critical for achieving the management objective of raising productive, profitable heifers. Therefore, growth at a given age cannot be compromised for the sake of improving feed efficiency.

Heifers' ability to use feed efficiently declines with age. Before puberty, heifer growth is mainly bone and muscle, but after puberty heifers gain more fat relative to bone and muscle and are therefore less feed efficient. The case can easily be made for achieving a steady state of growth from birth to first heat, followed by a second rate of growth following breeding to achieve the desired body weight at calving. Research has shown that before puberty, Holstein heifers should grow at about 1.8 lbs/day to maximize milk production in the first lactation.

Once a heifer has reached puberty (9 to 10 months of age for Holstein heifers) the rate of growth does not affect mammary development, and the next critical control point–body weight at calving–must be considered. Again, we know from research that dairy heifers need to be at or near 85% of the body weight of mature cows in your herd at first calving. If they are not, then first-calving heifers will expend excess energy during the first lactation for growth before milk production. Heifers that are small relative to their mature size will have dramatically lower feed efficiency in their first lactation as they will be growing, not producing milk. This phenomenon is a biological response to delayed growth before calving. In addition, heifers that are in the last third of gestation will be less feed efficient as the fetus and related tissues will be drawing off more dietary energy and protein to support rapid fetal growth. Heifers that have not reached adequate size at calving are also at greater risk for having difficulty delivering their calves, which has negative consequences for both calf and cow.

Environment

Environmental stresses and exercise are additional factors that affect maintenance requirements and thus will have direct effects on heifer feed efficiency. In this case we find that any environment or housing system that includes well bedded and managed free-stalls or bedded packs will improve feed efficiency because of lower maintenance costs. However any housing that allows heifers to be dirty and wet or allows animals to be heat or cold stressed will decrease feed efficiency due to increasing the maintenance energy required to maintain a normal body temperature.

Exercise also has effects, which are often small, but they can be great if heifers are walking long distances on a regular basis. In general, since heifers on pasture expend more energy to eat, their feed efficiency will be also be somewhat decreased.

Diet

A final yet important aspect to feed efficiency is the diet; both the amount fed and the ingredients in the ration can influence feed efficiency. Greater digestibility of the diet will allow the heifer to be more feed efficient. Therefore in typical heifer diets, which are mostly forage, forage quality and fiber digestibility can greatly influence feed efficiency. In addition, replacing forage with concentrate improves feed efficiency to a point, because grains and byproducts usually have better digestibility than forages. In addition when feeds with higher digestibility are fed to heifers the amount of feed dry matter needed to meet the targeted body weight gain is lower, resulting in less maintenance energy being needed for the various digestion processes in the animal.

When animals are fed more nutrient dense diets, and therefore less total dry matter per day, the rate of passage of feedstuffs out of the rumen is reduced, allowing rumen bacteria and protozoa to have a longer time to break down fiber and organic matter. This allows highly digestible feeds and forages to be digested even more, often improving total dry matter digestibility by 4 to 6% over what would normally be expected using book values for feedstuffs.

The increase in digestibility of more nutrient dense rations fed at a lower dry matter intake has the added benefit of less manure output. This reduction is positive for the environment, and saves money and time for producers, as there is less manure to haul. Of course, any excess nitrogen or minerals fed in these diets with greater digestibility and feed efficiency will still be excreted, however nutrients in the manure will be more concentrated due to the smaller amount of feces excreted.

Typical feed efficiency values for calves and heifers (feed to gain; DMI to ADG)

- Calves on milk 2:1 to 2.5:1
- Weaned calves (25% forage) 3:1 to 4:1
- Young heifers (50% high quality forage) 4:1
- Heifers on TMR 6:1 to 7:1
- Older heifers (poor forage) 8:1 or more (has been shown to be 15:1 in some cases)

Yearling heifers on high quality feeds and forages can easily have a 5:1 ratio of feed to gain, but this can decrease to 8:1 or more for less digestible, high forage diets. One example of allowing feedstuffs to digest longer in the rumen by not having animals on full feed was demonstrated in Wisconsin research. In this study heifers fed a controlled amount, 80% of ad-lib intakes, showed a 29% improvement in feed efficiency compared to heifers that were allowed to eat as much as they wanted. In addition, heifers fed a controlled amount produced approximately 2 pounds less manure (on a dry matter basis) each day than heifers fed ad-lib.

A last point is that a few feed additives that improve rumen function and microbial digestion have been shown to improve heifer feed efficiency. These include ionophores and yeast, both of which can affect feed and/or forage digestibility.

SUMMARY

In summary, improving feed efficiency in heifers can be accomplished by increasing diet digestibility, increasing forage fiber (NDF) digestibility, stimulating rumen microbial digestion, optimizing–not maximizing–feed intake, maintaining the animal in an adequate environment, maintaining the heifer in optimal health and management, and maintaining optimal growth rates. Finally, genetics may play an important part in feed efficiency.

¿CÓMO PUEDE LA ALIMENTACIÓN LÍQUIDA BASADO EN AZUCAR OPTIMIZAR LAS RACIONES DE VACAS LECHERAS?

Andrea Formigoni [1], Alberto Palmonari [1], Ludovica Mammi, [1]

Phil Holder [2] & Luiza Fernandez [2]

1 DIMEVET_Alma Mater Studiorum_University of Bologna
2 EDF&Man Liquid feed

INTRODUCCIÓN

Para hace frente a las demandas de los ganaderos, los nutricionistas deben formular dietas que:

1. Estimulan una mayor producción de leche en línea con la genética animal en las diferentes etapas de la lactancia;
2. Mejorar la composición de la leche (proteínas, grasas) y las propiedades para la fabricación de queso;
3. Reducir los riesgos de enfermedades metabólicas, tales como la acidosis ruminal;
4. Mantener un sistema inmunológico innato eficiente reduciendo los insultos inflamatorios en el rumen y en el intestino.

La formulación de raciones que, en teoría, son "correctas" no es suficiente para garantizar una respuesta a nivel de explotación. La manera en la que se preparan y gestionan las raciones, así como las técnicas de alimentación, también son muy importantes para lograr resultados óptimos y constantes. Hasta la fecha, somos conscientes de las repercusiones que las condiciones ambientales (temperatura, humedad, luz solar) pueden tener en las explotaciones, y también la gestión de grupos en relación a la fase de lactancia.

En comparación con el pasado, los conocimientos modernos nos permiten comprender mejor las necesidades del animal y la composición de los alimentos, así como de los modelos y el software de racionamiento.

El desafío para el nutricionista de vacas lecheras es formular raciones adecuadas en lo que concierne a nutrientes digeribles para el rumen y el intestino para cumplir con los requisitos de mantenimiento y producción a la vez que se mantiene una función digestivo saludable.

El objetivo de esta ponencia es resumir el papel desempeñado por los diferentes carbohidratos (CHO) y los azúcares en particular en lo que concierne a su presencia en las raciones de vacas lecheras.

NDF, aNDFom, uNDF, pdNDF y peNDF

El primer paso en la optimización de raciones es definir la necesidad de fibra de detergente neutro (NDF).

La determinación original del NDF ha cambiado mucho con el paso del tiempo; el uso de sulfito de sodio, la a-amilasa y, más recientemente, la corrección de ceniza ha reducido significativamente la importancia de esta fracción en los forrajes y concentrados, y ahora hacemos una estimación más refinada del contenido de pared celular. El último acrónimo utilizado para identificar a la estructura de la CHO se llama ahora aNDFom (materia orgánica de fibra de detergente neutro, obtenido con el uso de la amilasa y corregido su contenido de ceniza).

La aNDFom está compuesta de CHO potencialmente digeribles en el rumen y en el intestino (pdNDF), y de otra porción que se considera completamente indigesto (iNDF). En el pasado, se calculaba la iNDF utilizando una relación fija con la cantidad de ADL (ADL*2,4), pero ahora se puede determinar de manera analítica in vitro en 240h o en vivo en 288h. Estos procesos de fermentación tan largos producen un "residuo" llamado uNDF. Ahora, muchos laboratorios comerciales están equipados con curvas de NIR y pueden dar una evaluación rápida y económica de todas las diferentes fracciones de fibra en los alimentos.

Por lo tanto, la pregunta que se debe hacer al nutricionista es cuánto uNDF y pdNDF hace falta en el alimento.

Unas investigaciones llevadas a cabo por la Universidad de Bolonia, el Miner Institute, y Cornell University, sugieren que la cantidad adecuada de uNDF en el alimento está entre el 0,28 - 0,48% del peso corporal de la vaca o alrededor del 10-11% de la materia seca (Cotanch et al, 2014; Fustini et al., 2017). Parece que estas cantidades son adecuadas para mantener el tiempo de masticación y rumia así como el pH del rumen.

El requisito mínimo de NDF para vacas lecheras lactantes fue propuesto por Mertens (1997) en el 28-30% de la materia seca. Teniendo en cuenta que la aNDFom da unos valores más bajos que la NDF, podemos especular que la cantidad mínimo de aNDFom debería reducirse al 25-26% según las sugerencias de Mertens. Esto significa que se podría proponer un nuevo requisito para el pdNDF: se debe incluir en la ración aproximadamente un contenido mínimo del 15-16% sobre la base de la materia seca del pdNDF.

La evaluación de la velocidad de digestión de la fracción de pdNDF también es importante para calcular mejor la cantidad de fibra disponible para que las bacterias celulolíticas mantengan el equilibrio de la microbioma del rumen. Este aspecto es esencial para cumplir las necesidades de energía y los requisitos aminoácidos y para mantener un sistema digestivo saludable.

Para conseguir estos resultados, proponemos que el requisito mínimo de pdNDF fermentado en el rumen deberías igualar al menos la cantidad de almidón degradada en el rumen.

Es importante que la ración diaria asegure una cantidad de fibra "larga" (principalmente del forraje) que será la responsable de asegurar un tiempo apropiado de masticación, producción de saliva, y la motilidad fisiológica del rumen. Este parámetro, conocido como fibra físicamente efectiva (peNDF) y que fue introducido por primera vez por Mertens hace muchos años (1997), ha sido revisado en profundidad recientemente (White et al., 2017). El factor principal a tener en cuenta a la hora de calcular el peNDF es el tamaño de las partículas; sin embargo, incluso el peso de las partículas, la cantidad de uNDF, y la velocidad de digestión del pdNDF tienen un gran impacto sobre la eficacia del peNDF en lo concerniente al tiempo de rumia y los hábitos alimenticios. También se puede tener en cuenta la "fragilidad" del forraje (diferente entre las hierbas y las leguminosas) pero aun es difícil medir este aspecto.

Desde una perspectiva práctica, el forraje mejor para "promover la masticación" es el heno, incluso cuando se administra con tamaños de partículas pequeñas (< 1-2 cm: Fustini et al., 2011); se puede explicar este efecto por la baja tasa de degradabilidad del pdNDF, sus características de flotabilidad y su reducida fragilidad al masticar. Basándose en estos datos experimentales, los valores de peNDF del heno pueden "forzarse" hasta el 110-115% del aNDFom Por esta razón, en muchos casos, la inclusión de pequeñas cantidad de paja puede ser suficiente para cubrir eficazmente las necesidades de uNDF y de peNDF.

Además, se pudo medir el tiempo individual de masticación diaria en varias explotaciones gracias a unos sensores colocados en el cuello del animal. En el caso de vacas de alta producción, el tiempo de rumia debe exceder los 450-480 minutos al día; en estas condiciones, las raciones pueden ajustarse con mayor precisión para optimizar la función digestiva de los animales.

La fibra soluble

Consistente principalmente de pectinas y algunas fracciones de la hemicelulosa; la fibra soluble (SF) no se analiza directamente, sino que se hace una estimación basada en la siguiente ecuación:

SF = 100 – (aNDFom + Proteína Cruda + Ether Extract + Ceniza + Almidón + Azucares + Ácidos orgánicos)

La SF se considera un "combustible" rápido para la bacteria celulolítica. La leguminosas, los "granos blancos" y los subproductos, como la pulpa de remolacha, son ricos en estos compuestos.

Se han llevado a cabo varias pruebas para evaluar una posible sustitución de forrajes y almidón por fuentes de fibras solubles (Allen et al., 2013). Los resultados generalmente son interesantes, ya que la producción de leche no se ve afectada, mientras que la cantidad de grasa en la leche aumenta, gracias a la mayor producción de butirato (tanto ruminal como intestinal). Un resultado importante obtenido por Allen et al. (2013) está relacionado con un proceso de engorde de las vacas más lento a mitad del periodo de lactancia cuando se cambió el maíz por pulpa de remolacha. En esta fase de la lactancia, los activos endocrinos y metabólicos varían, y los tejidos periféricos son más sensibles a la insulina. La producción de la insulina se ve estimulada por el propionato producido en el rumen a partir del almidón, y por la glucosa absorbida en el intestino. En conclusión, con un uso más apropiado de la fibra soluble (SF) es posible reducir el riesgo del "síndrome de la vaca gorda" ("fat cow syndrome").

Por otro, también es importante recordar que si la fibra soluble se escapa del rumen, podría reducir la absorción de otros nutrientes en el intestino, lo cual puede resultar en varios trastornos, como la diarrea, y fermentaciones cecales anormales. Estos efectos son bien conocidos en animales monogástricos, especialmente cuando se utilizan cereales como la cebada, la avena, o el trigo.

El Almidón

Un CHO que se utiliza normalmente para aumentar la energía dietética de apoyo.

El almidón puede variar según de qué fuentes vegetales se deriva, por los tratamientos tecnológicos, y por la gestión durante su almacenamiento. Consecuentemente, cambia mucho su digestibilidad ruminal e intestinal. Desde el punto de vista de laboratorio, la evaluación del almidón está normalizada, pero su digestibilidad no lo está. A fecha de hoy, se estima la digestibilidad del almidón usando fermentaciones in vitro de 7 h, pero el cálculo correcto de las tasas de digestión y de paso está lejos de haberse conseguido y, por lo tanto, sigue siendo objeto de debate.

Se han realizado varios estudios para definir los mejores niveles de aportación del almidón a la dieta, dependiendo de la producción de leche y la fase de lactancia. Teniendo en cuenta todos los temas mencionados arriba, es típico considerar al almidón como un compuesto de dos fracciones: la primera es la parte fermentable en el rumen, y la segunda es la parte digerida en el intestino.

Considerando los factores anteriormente descritos, el rango de aportación varía, y puede estimarse entre el 18-20% y el 28-30% DM, en relación con la cantidad de almidón que tiene que ser fermentado en el rumen y digerido en el intestino delgado.

Un enfoque posible en relación al equilibrio de la ración sería igualar la cantidad de pdNDF y del almidón digerido en el rumen.

Una de las preocupaciones principales acerca de la inclusión de almidón fermentable está relacionada con el riesgo de la acidosis ruminal sub-aguda. Este trastorno no siempre es fácil de diagnosticar y, en una explotación cualquiera, no todos los animales se ven afectados, incluso si se les da la misma dieta (Khiaosa-ard et al., 2018).

Unos estudios recientes realizados en la Universidad de Bolonia subrayan que la respuesta es estrictamente individual y varía mucho entre los animales.

En general, la práctica y la experiencia científica sugieren que las raciones ricas en almidón cambian significativamente el ecosistema microbiano en el rumen, resultando en cambios de las poblaciones microbianas, lo cual afecta al metabolismo y a la producción del animal. En unos trabajos recientes, se ha observado que tales cambios conducirían a unas alteraciones graves en el epitelio del rumen, provocando una inflamación local y general, lo cual, a su vez, conduce a patologías de tipo SARA, tales como la laminitis o enfermedades hepáticas (Zebeli & Ametaj, 2013; García et al., 2017).

Los Azúcares

La fracción de CHO "simplificado" incluye monosacáridos (una sola molécula), disacáridos (de 2 a 20 unidades de monosacáridos) u oligosacáridos (cadenas largas).

Los monosacáridos pueden tener de 3 a 6 átomos de carbono. Los tipos con 6 átomos, también llamados azucares hexosas (como la glucosa, la fructosa, o la galactosa), normalmente fermentan con rapidez en el rumen; mientras que las pentosas (la xilosa, manosa, arabinosa, que se encuentran en los forrajes) son más lentos como se ve en la Tabla 1 (Miron, 2002).

Tabla 1. Degradabilidad ruminal de monosacáridos hexosas - glucosa y fructosa - y de la pentosa xilosa.

Azúcar	Digestibilidad %
Glucosa	73,1
Fructosa	89,0
Xilosa	53,6

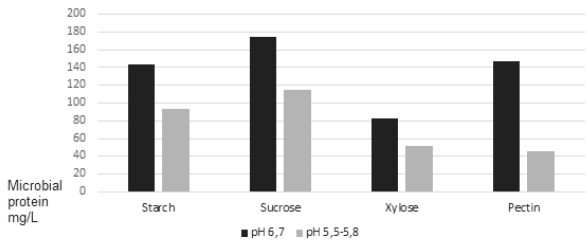
Entre los disacáridos, la sacarosa y la maltosa (hexosas) fermentan fácilmente en el fluido del rumen, mientras que la xilosa (pentosas) no. La lactosa también requiere cierto "tiempo de demora".

La idea prevalente es que el 100% de los mono y disacáridos que se libran de la fermentación serán digeridos en el intestino delgado. Esto puede ser cierto en el caso de los azúcares de 6 carbonos de la caña de azúcar y la melaza de remolacha, pero hay evidencia de que la lactosa no se digiere tan bien.

Los estudios han demostrado que los azúcares de 5 carbonos, que predominantemente vienen de la hemicelulosa, de la descomposición de las fibras, no se digieren bien en el intestino delgado y solamente hasta cierto punto en el intestino posterior (hindgut).

El papel nutricional de los azúcares es proporcionar al microbioma con energía disponible (tabla 2), pero también modular las funciones del rumen, estimulando los nichos específicos, y preservar el estatus del epitelio.

Tabla 2. Los efectos de los diferentes fuentes de carbohidratos en la síntesis de la proteína microbiana in vitro (Strobel, H. J., & Russell, J. B. 1986).



Varios estudios has reportado mejoras en las concentraciones de butirato ruminal cuando se aumentaron los niveles de azúcar dietético como sustituto parcial del almidón de cereales de grano (DeFrain et al., 2004, 2006; Chibisa et al., 2015; Oba et al., 2015) y este mecanismo puede explicar las grandes ventajas vistas en este campo:

- MAYOR EFICENCIA RUMINAL: el butirato es un factor de crecimiento para el epitelio (Malhi et al., 2013). Las dietas para vacas lecheras que contienen grandes porcentajes de azúcares pueden incrementar la producción y, por lo tanto, promover una absorción de energía más eficiente a través de las papilas del rumen.

- ESTABILIDAD DEL PH: El butirato sólo genera un H+ mientras que otros VFA (ácidos grasos volátiles AGV) como el propiónico y acético generan 2 H+. Eso significa que al incrementar la producción de la proporción de butirato y al promover una absorción más rápida de todos los VFA en el rumen, los azúcares pueden controlar mejor el pH del rumen en comparación con el almidón.

- INCREMENTO DE GRASA EN LECHE: los azúcares estimulan el crecimiento de la bacteria Butyrivibrio fibrisolvens que produce el butirato. Esto condujo a la inhibición del trans-10 *biohydrogenation pathway* ruminal, lo que explica el aumento en la síntesis de grasa láctea observado cuando se sustituía parte del almidón por azúcares en la ración de comida de los rumiantes (Sun et al, 2015).

Los azúcares, por lo tanto, actúan como moduladores de la microbiota ruminal y mejoran el estado trófico de la mucosa ruminal cuando se añaden correctamente a las raciones de alimento.

Otro aspecto interesante relacionado con la presencia de azúcares en la ración está relacionado con la manera en que influyen la digestibilidad de la fibra (Broderick et al, 2008) que podría ser, por lo menos en parte, por la mayor presencia de hongos del rumen. El aumento de la digestibilidad de la fibra también puede explicar el impacto positivo general sobre la ingesta de alimento cuando se añade azúcar a las raciones.

Los efectos sobre el metabolismo del nitrógeno son interesantes también. En 1993, Chamberlain et al. mostraron que los azúcares solubles son superiores al almidón como fuente de energía para la fijación del nitrógeno en el microbiota del rumen. Estas pruebas también surgieron en el trabajo de Pina, 2010.

Tabla 3. Efectos de los diferentes fuentes de carbohidratos sobre la síntesis de proteínas por el microbiota (Pina, 2010).

	Ensilage	Almidón	Xilo	Sacar	Lact	Fruct
Amoniaco en el rumen mg/l	255	213	180	157	158	164
Síntesis de proteínas por el microbiota, g/día	64	74	82	93	89	86

Una mayor fijación de nitrógeno en el rumen reduce la pérdida de nitrógeno a través de heces y la orina, lo cual resulta beneficioso para el medio ambiente, según demostró Hristov et al., (2005) pero no por Broderick et al., (2008).

El glicerol es un subproducto líquido que se obtiene de la producción de biodiesel y hace años que está disponible como alimento animal. El glicerol es un alcohol del azúcar con tres grupos de hidroxilo (-OH) que son responsables de su solubilidad en el agua.

Se han estimado tres "pathways" del glicerol en el rumen, que incluyen el paso (13%), la fermentación (44%) y la absorción (43%). Estudios iniciales sobre el glicerol sugirieron una rápida fermentación por las bacterias del rumen para producir propionato. Los estudios de fermentación in vitro sugieren que Selenomonas spp. eran los agentes que principalmente fermentaban el glicerol, y que los productos principales eran el propionato, el lactato, el succinato y el acetato. Sin embargo, se han mencionado otros productos finales que surgen de la fermentación del glicerol. La respuesta más consistente tanto de los experimentos in vitro e in vivo parece ser un ligero incremento en la proporción de propionato y un mayor incremento de butirato (Krebbiel C.R., 2008). Se ha propuesto al glicerol como un precursor de la glucosa para las vacas lecheras o para tratar la ketosis con unos resultados modestamente favorables no comparables con aquellos obtenidos con el uso de glicol de propileno (Overton, 2007).

La administración de 1 kg por cabeza de ganado por día de glicerol en vez de 1 kg de pienso seco de maíz tuvo un efecto positivo en la ingesta y en el contenido de grasa láctea y de leche corregida por grasa (Formigoni et al., datos no publicados). Los resultados obtenidos por Donkin et al., (2007) no confirmaron la mejora de la ingesta de alimentos y de la producción de leche, aunque se observó una reducción en el contenido de N en la urea de la leche, lo que indica indirectamente un crecimiento bacteriano rápido.

Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos (cítrico, aspartato, fumarato y malato) no pueden ser considerados estrictamente entre los carbohidratos pero su presencia en forraje fresco joven y en el heno que ha sido deshidratado rápidamente es importante, representando hasta un 4-5% de la materia seca (Callaway et al., 1997; Formigoni et al., 2003), (Tabla 4). Los ácido orgánicos son capaces de modificar la fermentación ruminal e intestinal, estimulando y/o deprimiendo la actividad de bacterias específicas. El ácido málico, en particular, es un metabolito importante para la población microbiana ruminal, ya que mejoran la absorción de ácido

láctico por *Selenomonas ruminantium* (Evans y Martin, 1997) y *Megasphaera elsdenii* (Rossi y Piva, 1999). Varios estudios han demostrado lo beneficioso que es añadir ácido málico a la dieta de novillos y de vacas lecheras para la fermentación ruminal (Martin, 1998; Sahoo y Jena, 2014).

Tabla 4. La influencia del tiempo y de los métodos de secado sobre el contenido de ácidos orgánicos en la alfalfa (g/kg)

Tiempo después del corte, horas	Cítrico	Málico	Aconitico	Fumárico	Total
1	11.14	27.36	1.22	2.90	42.62
12	9.35	27.49	0.84	2.99	40.67
24	9.57	26.41	0.74	2.93	39.65
48	8.98	23.93	0.76	2.97	36.64
(*)48	8.65	22.47	0.55	2.67	34.34
72	6.70	19.65	0.46	2.42	29.23

(*) Deshidratado con aire a baja temperatura (<100°C); (Formigoni et al., 2003).

La composición de las melazas

Recientemente, la Universidad de Bolonia llevó a cabo unas pruebas para clarificar la composición y la variabilidad de las melazas ya que las referencias en la literatura no eran lo suficientemente precisas y aún se desconocía hasta un 15% del contenido de materia seca.

El estudio analizó 16 muestras de caña de azúcar y 16 de melaza de remolacha procedentes de todo el mundo. Se utilizó el método gravimétrico para determinar la material seca (DM), el Kjeldhal para la CP, los azúcares y el almidón mediante el método enzimático, los minerales por ICP, los ácidos orgánicos y otros componentes por HPLC. Con este enfoque, se pudo caracterizar el 97.4% y el 98.3% de la DM de la caña de azúcar y de las melazas de remolacha, respectivamente.

La caña de azúcar presentaba un contenido menor de materia seca comparado con la melaza de remolacha (76.8±1.02 vs 78.3±1.61% a.f.), y un contenido de CP (4.8±1.7 vs 10.5±1.1% a.f.), con un valor mínimo de 1% a.f. en la caña hasta un máximo del 12% a.f. en la melaza de remolacha.

La cantidad de sacarosa era mayor en la melaza de remolacha que en la de caña (48.4±1.5 vs 37.5±4.8% a.f.), pero con mucha variabilidad incluso dentro de la melaza de caña (51.00 max to 33.31 min, % a.f.) y de la melaza de remolacha.

Se detectó glucosa y fructosa en la melaza de caña (4.06±2.07 y 6.20±2.17% a.f., respectivamente), mostrando una alta variabilidad, pero apenas de detectaron monosacáridos en la melaza de remolacha.

La composición de los ácidos orgánicos varió entre las melazas. Había una mayor concentración de ácido láctico en la caña en comparación con la remolacha (4.69±2.16 vs 3.48±1.37% a.f.), variando de un máximo de 9.77% a un mínimo de 1.23% en la melaza de caña. Solamente se encontró ácido aconítico en la melaza de caña, mientras que se encontró ácido glicólico en la remolacha. El total de ácidos varió del 2% al 14% a.f.

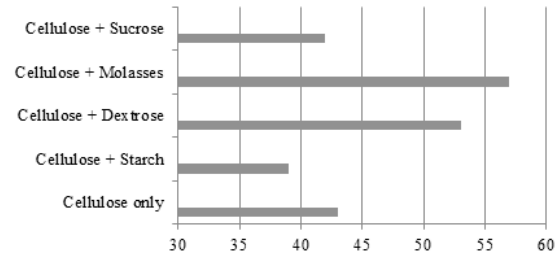
Había mayores concentraciones de sulfatos, fosfatos, y cloruros en la melaza de caña, que mostraba una menor DCAD en comparación con la remolacha (4.47±4.97 vs 53.94±33.36 meq/100g a.f.). Dentro del grupo de la caña, varió de +117.63 hasta -58.59 meq/100g a.f., mientras que en la remolacha varió de +129.20 hasta +3.24 meq/100g a.f.

En conclusión, los datos obtenidos en este estudio demuestran las diferencias significativas en la composición de las melazas, destacando que una descripción y caracterización más precisa es posible y que se necesita especialmente si se quiere optimizarlo en el uso de la alimentación animal.

El impacto de los azúcares y de alimento líquido en la digestibilidad de la fibra

Hace muchos años, se informó que la digestión de la celulosa mejoraba con la inclusión de melaza, aunque no de almidón (Tabla 5; Arias et al., 1951); además, el uso de sacarosa pura no producía resultados comparables a los conseguidos con la melaza, confirmando que este producto no es simplemente una "fuente de azúcar".

Tabla 5. La digestión de fibra (24h in vitro) con diferentes carbohidratos.



En nuestro laboratorio, se utilizó un enfoque parecido para evaluar la digestibilidad de la fibra in vitro a las 8, 24, y 48 horas, añadiendo varias sustancias a los frascos de fermentación (Tabla 6). Al añadir melaza, alimentos líquidos, o productos líquidos (6% en base a DM) a un tipo de forraje común (maíz ensilado), la digestibilidad de la fibra era mayor en comparación con el forraje solo. En particular, las melazas conseguían una mayor digestibilidad que la sacarosa blanca añadida y que el suero de leche.

Utilizando el mismo procedimiento, se probaron 3 alimentos líquidos diferentes. Los resultados indicaron que "Milker" fue capaz de mejorar la digestibilidad de la fibra notablemente.

El alimento líquido "Milker" consistía de una mezcla de varias fuentes de azúcar y de nutrientes solubles (melaza, maltosa, ácidos orgánicos, etc.) que dieron el mejor valor de la digestibilidad de la fibra a los 48 horas.

Los resultados obtenidos mediante la adición de mezclas de productos líquidos ("alimentos líquidos") formulados específicamente, sugiere que podría ser posible manipular mejor las fermentaciones del rumen que al utilizar un sólo fuente de azúcar.

Tabla 6. Los efectos de diferentes sustratos energéticos sobre la digestibilidad aNDFom evaluados *in vitro*.

	La digestibilidad in vitro aNDFom		
Producto	8h	24h	48h
Melaza de caña	+10,61	+19,98	+20,19
Melaza de remolacha	+11,16	+16,57	+17,86
Almidón puro	+9,65	+14,26	+15,03
Azúcar blanco (sacarosa)	+7,49	+10,84	+7,42
Glicerol	+10,08	+7,40	+7,77
Suero de leche	+5,68	+2,29	+2,54
Milker (ED&F-Man)	+3,19	+25,45	+27,18

El impacto de la melaza en la producción de gas y en la población microbiana in vitro

Para investigar mejor los efectos específicos de los azúcares y las melazas en todas las condiciones del rumen, se testeó, in vitro, la digestibilidad del azúcar, la producción de gas, la producción de VFA, y el impacto sobre las poblaciones microbianas, utilizando la melaza de caña y de remolacha. Se observó que las hexosas se digieren bien (hasta un 95%) en las primeras 2 horas, mientras que las pentosas son más lentas, especialmente la xilosa (80% de media después de 24h; Figura 1).

La sacarosa en la melaza de degradó completamente a las 1-2 horas, confirmando su alta velocidad de degradación. Los valores Kd considerados para los azúcares de las melazas de la remolacha y de la caña en la base de datos de la última versión del Cornell Net Carbohydrates and Protein System (CNCPS vs 6.55) cambiaron de 60 al 20% por hora. Basándonos en nuestros datos preliminares, los valores anteriores considerados por la CNCPS probablemente eran más apropiados para describir la degradación de azúcares contenidos en las melazas.

En lo que respecta la producción de gas, la adición de la melaza adelantó la fase exponencial, que tuvo lugar unos 2 horas antes que en las muestras "en blanco" (4h). La adición de la melaza induciría un cambio de los VFA producidos en ciertos momento (1h - 24h), reduciendo el acetato y aumentando el butirato (Figura 2).

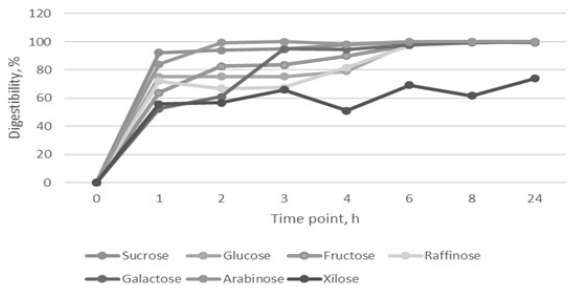


Figura 1. La digestibilidad de un azúcar simple *in vitro* en distintos momentos.

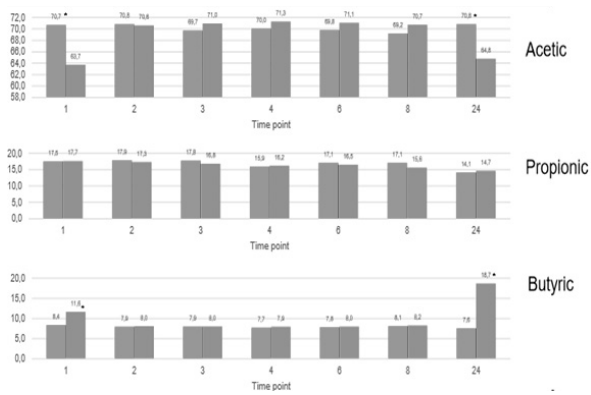


Figura 2. Los ácidos grasos volátiles producidos in vitro en distintos momentos (% del total).

La adición de la melaza también cambió el microbioma. Se observó un aumento de *S.bovis* y también de *M.elsdenii*, que fermentan el lactato producido por *Bovis*. Además, se incrementó la cantidad de *Butyrivibrio spp.* con la adición de melaza, y esto podría explicar en parte la mayor digestibilidad de la fibra, así como el aumento de butirato. A pesar de la mayor cantidad de energía suministrada, la población metanogénica no se vio afectada por la adición de melaza. La familia *Ruminococcaceae* variaba según la melaza utilizada, pero no se observaron diferencias significativas.

¿Cuánto azúcar hay en nuestras raciones?

Teniendo en cuenta los resultados que se encuentran en la literatura y los datos preliminares obtenidos en nuestro laboratorio, en enfoque de la formulación de la ración para vacas lecheras debe considerar, por separado, la composición individual de azúcar de cada ingrediente. Este enfoque más precisa será posible cuando las capacidades analíticas para determinar la cantidad de azúcar mejoren.

Recientemente, De Ondarza et al. (2017) analizó 24 estudios utilizando un modelo mixto de regresión lineal. Consideraron diferentes niveles de azúcares añadidos en las raciones (control, 1,5 - 3%, 3-5%, vs 5-7% de materia seca), días en categoría de leche con tratamiento, la categoría de control de producción de leche con tratamiento, y varios variable continuos de los nutrientes.

En la vacas que producen >33 kg de leche/d, el azúcar dietético añadido tuvo una mayor respuesta (2,14 kg de 3,5% FCM/d; P < 0,0001) que en las vacas que producían <33 kg de leche (0,77 kg de 3,5% FCM/d). El azúcar dietario añadido no afectó a la grasa láctea o al porcentaje de proteína (P > 0,15). Los variables de nutrientes con un efecto positivo sobre el rendimiento de 3,5% FCM incluían almidón adicional y proteína B2 (no soluble en detergente neutro hervido pero soluble en una solución de ácido detergente hervido). Un análisis estadístico no lineal predijo el total óptimo de azúcar dietético en 6,75% de la dieta de DM. Los autores concluyeron que para optimizar la respuesta del 3.5% de rendimiento FCM cuando se aportan azúcares dietéticas adicionales, se debe dar una dieta moderada en almidón (22 a 27% de DM) en combinación con un contenido moderado a alta de fibra soluble (6,0 a 8,5% de DM).

Estos datos evalúan la gran importancia de equilibrar las diferentes fracciones de CHO ya que cada uno de ellos puede impulsar y tener un impacto en la composición del microbioma ruminal y, en general, en la respuesta del animal.

Alimentos líquidos

Los alimentos líquidos son muy interesantes por varias razones, incluso por su capacidad de ayudar a los nutricionistas o los ganaderos a la hora de preparar raciones porque elimina la gran variabilidad de la composición de las melazas. Si pensamos, por ejemplo, en la preocupación de usar melaza en vacas secas dado la alta variabilidad del contenido en potasio, un alimento líquido con un DCAD bajo, neutro, o incluso aniónico podría servir perfectamente a estos grupos de vacas. Por el contrario, los nutricionistas podrían elegir alimentos líquidos con mayor nivel de DCAD para usar durante el verano, por ejemplo.

Además, los alimentos líquidos específicamente formulados pueden mejorar la palatabilidad de la ración más que melaza a secas.

Los alimentos líquidos basados en la melaza de caña de azúcar y de remolacha pueden mejorar la palatabilidad de la ración y reducir la actividad clasificadora del animal (DeVries et al., 2012). Cuando el TMR seco se prepara sin ensilajes, los alimentos líquidos son muy eficaces a la hora de reducir la presencia de polvo.

Se pueden usar los alimentos líquidos para apoyar y transportar varios productos como la glicerina, el propilenglicol, el suero, los destiladores, los aminoácidos, fuentes de NPN, los ácidos orgánicos, aditivos, minerales, etc.

La digestión de los diferentes nutrientes en los alimentos líqui-

dos cambian dependiendo de su fuente; en particular, la velocidad de digestión (Kd) cambia a causa del origen de talen nutrientes, mientras que la velocidad de paso (Kp) suelen ser los mismos para todos los componentes solubilizadas. La velocidad de paso de los alimentos líquidos es mayor que en el caso de los alimentos sólidos. En el caso de vacas de alta producción, con un alto consumo de materia seca, se estima un Kp de 1,5-2,0%/h para el forraje, de 5-8%/h para los concentrados, y más del 14-16%/h para los nutrientes solubilizadas en licor ruminal. Según estos números, una cantidad razonable de nutrientes de los alimentos líquidos llegarían al intestino y serían absorbidos dependiendo de las respectivas velocidades de digestión.

CONCLUSIÓN

Los alimentos líquidos son interesantes por el papel dietético y tecnológico que juegan; pueden mejorar la palatabilidad de la ración, reducir la intensidad con que las vacas escogen la comida, y limitar la presencia de polvo.

El uso de alimentos líquidos ricos en azúcares y otros componentes solubles (ácidos orgánicos, minerales, urea, aditivos, etc.) debería ser una forma práctica y fácil de integrar y equilibrar las raciones en lo que respecta los nutrientes específicos para:

- Aumentar el consumo de materia seca, la producción de leche y el contenido en materia grasa;
- Manipular la fermentación ruminal e intestinal;
- Mejorar la digestión y la eficiencia nutricional de la fibra;
- Reducir el riesgo dela sub-acidosis del rumen, daños a la mucosa, y estimular el sistema inmunitario innato con posibles efectos beneficiosos en la salud del animal.

Reconocimiento

Los autores agradecen a EDF&Man por respaldar la actividad investigadora y al Dr.Fagioli Luigi por su apoyo analítico y su contribución.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, M., 2013. Adjust dietary starch throughout lactation. Feedstuff. 29th April 2013, pp 12-15.
- Arias, C., W. Burroughs, P. Gerlaugh, R.M. Bethke, 1951. The Influence of Different Amounts and Sources of Energy Upon In Vitro Urea Utilization by Rumen Microorganisms. J. Animal Sci. 10:683-692.
- Broderick, G.A., N.D. Luchini, S.M. Reynal, G.A. Varga, V.A. Ishler, 2008. Effect on Production of Replacing Dietary Starch with Sucrose in Lactating Dairy Cows. J. Dairy Sci. 91:4801-4810.
- Callaway, T. R., S. A. Martin, J. L. Wampler, N. S. Hill, G. M. Hill, 1997. Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. J. Dairy Sci. 80:1651-1655.
- Chamberlain, D. G., S. Robertson, J. J. Choung, 1993. Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. J. Sci. Food Agric. 63:189-194
- Chibisa, G. E., P. Gorka, G. B. Penner, R. Berthiaume, T. Mutsvangwa, 2015. Effects of partial replacement of dietary starch from barley or corn with lactose on ruminal function, short-chain fatty acid absorption, nitrogen utilization, and production performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 98:2627–2640. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8827
- Cotanch, K. W., R. J. Grant, M. E. Van Amburgh, A. Zontini, M. Fustini, A. Palmonari, A. Formigoni., 2014. Applications of uNDF in ration modeling and formulation. Pages 114–131 in Proc. Cornell Nutr. Conf., Dept. Anim. Sci., Cornell Univ., Ithaca, NY
- DeFrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, D. J. Schingoethe., 2004. Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma β-hydroxybutyrate in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87:2486-2494.
- DeFrain J.M., Hippen A.R., Kalscheur K.F., Schingoethe D.J., 2006. Feeding lactose to increase ruminal butyrate and the metabolic status of transition dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 267-276.
- De Ondarza, M.B., S.M. Emanuele, C.J. Sniffen, 2017. Effect of increased dietary sugar on dairy cow performance as influenced by diet nutrient components and level of milk production. Prof. Anim. Sci. 33:700–707. doi:10.15232/pas.2017-01648.
- DeVries, T.J. and R.M., Gill, 2012. Adding liquid feed to a total mixed ration reduces feed sorting behavior and improves productivity of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:2648-2655.
- Donkin, S.S., M.R. Pallatin, P.H. Doane, M.J.Cecava, H.M. White, E. Barnes, S.L. Koser, 2007. Performance of dairy cows fed glycerol as a primary feed ingredient. J. Dairy Sci. 90 Suppl.1:350.
- Evans, J. D. and S. A. Martin, 1997. Factors affecting lactate and malate utilization by Selenomonas ruminantium. Appl. Environ. Microbiol. 63, 12, 4853-4858.
- Formigoni A., G. Biagi, A. Piva, P. Pezzi, 2003. The drying method affects the organic acid content of alfalfa forages. Ital. J. Anim. Sci., Vol. 2 Suppl. 1, 243-245.
- Fustini, M., A. Palmonari, E. Bucchi, A.J. Heinrichs, A. Formigoni, 2011. Chewing and ruminating with various forage qualities in non-lactating dairy cows. Prof. Anim. Sci. 27:352-356.
- Fustini, M., A. Palmonari, G. Canestrari, E. Bonfante, L. Mammi, M. T. Pacchioli, G.C. J. Sniffen, R. J. Grant, K. W. Cotanch and A. Formigoni, 2017. Effect of undigested neutral detergent fiber content of alfalfa hay on lactating dairy cows: Feeding behavior, fiber digestibility, and lactation performance. J. Dairy Sci. 100:4475-4483.
- Garcia, M., B.J. Bradford, T.G. Nagaraja, 2017. Invited Review: Ruminal microbes, microbial products, and systemic inflammation. The Professional Animal Scientist Volume 33, Issue 6, December 2017, pp 635-650.
- Hristov, A.N., J.K. Ropp, K.L. Grandeen, S. Abedi, R.P. Etter, A. Melgar, A.E. Foley, 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 83:408-421.
- Humer, E., R.M. Petri, J.R. Aschenbach, B.J. Bradford, G.B. Penner, M. Tafaj, K.H. Südekum, Q. Zebeli, 2018 Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. J. Dairy Sci., 101, 2, 872–888.
- Khiaosa-ard ,R., P. Pourazad, S. Aditya, E. Humer, Q. Zebeli, 2018. Factors related to variation in the susceptibility to subacute ruminal acidosis in early lactating Simmental

cows fed the same grain-rich diet. Anim. Feed Sci. Technol. 238:111-122.

- Krehbiel, C. R., 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. J. Dairy Sci. v. 86, n. 1, p. 392, Supplement.
- Malhi, M., H., Gui, L. Yao, J.R., Aschenbach, G. Gäbel, Z. Shen, 2013. Increased papillae growth and enhanced short-chain fatty acid absorption in the rumen of goats are associated with transient increases in cyclin D1 expression after ruminal butyrate infusion. J. Dairy Sci. 96:7603–7616.
- Martin S.A., 1998. Manipulation of Ruminal Fermentation with Organic Acids: A Review. J. Anim. Sci., 76:3123–3132.
- Mertens, D. R., 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. J. Dairy Sci. 80:1463-1481.
- Miron D., M. Petreikov, N. Carmi, S. Shen, I. Levin, D. Granot, E. Zamski, A.A. Schaffer, 2002. Sucrose uptake, invertase localisation and gene ex-pression in developing fruit of Lycopersicon esculentum and the sucrose-accumulating Lycopersicon hirsutum. Physiol. Plant 115:35–47.
- Oba, M., J. L. Mewis, Z. Zhining, 2015. Effects of ruminal doses of sucrose, lactose, and corn starch on ruminal fermentation and expression of genes in ruminal epithelial cells. J. Dairy Sci. 98:586-594.
- Overton, T. R., 2007. Use of glycerol in dairy rations. Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. Syracuse, NY pp. 73-79.
- Rossi, F. and G. Piva, 1999. Effect of malic acid on growth and metabolism of Megasphaera elsdenii - a rumen bacterium [cattle]. Proc. XIII A.S.P.A. Conger, Piacenza, Italy, 342-344.
- Sahoo, A. and B. Jena. 2014. Organic acids as rumen modifiers. Int. J. Sci. Res., 3 11, pp. 2262-2266.
- Strobel, H.J. and J.B. Russell, 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69:2941-2947.
- Sun X., Y. Wang, B. Chen, X. Zhao, 2015. Partially replacing corn starch in a high-concentrate diet with sucrose inhibited the ruminal trans-10 biohydrogenation pathway in vitro by changing populations of specific bacteria. J. Animal Sci. Biotechnol. 6:57.
- Pina, D. S., R.F.D. Valadares, S. C. Valadares Filho, M. L. Chizzotti, 2010. Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: Valadares Filho, S. C., Marcondes, M. I., Chizzotti, M. L. Paulino, P. V. R. Org.. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados - BR - Corte. 2. ed. Viçosa, MG: UFV. p. 13-46.
- White R.R., M.B. Hall, J.L. Firkins, P.J. Kononoff, 2017. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. II: Development of feeding recommendations. J Dairy Sci. 100, 9569-9584.
- Zebeli Q., Ametaj N.B. 2013. Linking rumen disorders to immunity in cattle: old and new paradigms. Albanian J. Agric. Sci.;12 (1): 57-60.

ENGLISH VERSION

Improving feed efficiency in dairy heifers

Andrea Formigoni [1], Alberto Palmonari [1], Ludovica Mammi, [1]

Phil Holder [2] & Luiza Fernandez [2]

1 DIMEVET_Alma Mater Studiorum_University of Bologna

2 EDF&Man Liquid feed

INTRODUCTION

When facing farmer's demands, nutritionist have to formulate diets which:

a- Stimulate higher milk production as supported by animal genetics in different stage of lactation;

b- Improve milk composition (protein, fat) and cheese making properties;

c- Reduce risks of metabolic disease, such as ruminal acidosis;

d- Maintain efficient innate immune system reducing inflammatory insults in rumen and intestine.

Formulation of rations "right" in theory is not sufficient to guarantee farm-scale responses. The way rations are prepared and managed, as well as feeding techniques, are also very important to achieve optimal and constant results. Up to date, we are aware of the impact that environmental conditions could have on farms (temperatures, humidity, daylight), and also about group management in relation to stage of lactation.

Compared to the past, modern knowledge allows us to better comprehend animal requirements and feedstuff composition, as well as rationing models and software.

The challenge of dairy cows nutritionist is to formulate rations adequate in terms of rumen and intestinal digestible nutrients to meet maintenance and production requirements maintaining at the same time a good and healthy digestive function.

Goal of the present paper is to summarize the role played by the different carbohydrates (CHO) and sugars in particular, within their requirement in milking dairy cow rations.

NDF, aNDFom, uNDF, pdNDF and peNDF

The first step of the ration's optimisation is the definition of neutral detergent fiber (NDF) requirements.

The original NDF determination changed a lot over the time; the use of sodium sulfite, a-amylase and more recently the ash correction reduced significantly the entity of this fraction inside of forages and concentrates and we have now a more refined estimation of the cell wall content. The last acronym used to identify the structural CHO is now called aNDFom (neutral detergent fiber organic matter, obtained with the use of amylase and corrected for the ash content).

The aNDFom is composed by potentially digestible CHO in the rumen and intestine (pdNDF), and another portion which is considered completely indigestible (iNDF). In the past the iNDF was estimated with a fixed ratio with ADL amount (ADL*2,4), while now it can be analytically determined in vitro at 240h or in vivo at 288h. These long fermentations give a "residue" called uNDF. Many commercial laboratories are now equipped with NIRs curves that can give rapid and economic evaluation of all different fiber fractions in feedstuffs.

Thus, the question for the nutritionist is how much uNDF and pdNDF need to be fed.

Researches run by Bologna University, Miner Institute and Cornell University, suggest that the adequate amount of uNDF which has to be fed is between 0,28 - 0,48% of cow body weight or around of 10-11% of the dry matter (Cotanch et al, 2014; Fustini *et al.*, 2017). These amounts seem to be adequate to maintain chewing and rumination time as well as rumen pH.

The minimum requirement of NDF for lactating dairy cows was proposed by Mertens (1997) at 28-30% of dry matter. Considering that aNDFom give us lower values than NDF, we can speculate that a minimum requirement for aNDFom should be reduced to 25-26% according to Mertens suggestions. It means that a new specific requirement for pdNDF could proposed: approximately a minimum content of 15-16 % on dry matter basis of pdNDF should be included in the ration.

The evaluation of the digestion rate of pdNDF fraction is also important in order to have a better estimation of the available fiber for cellulolytic bacteria to maintain the equilibrium in rumen microbiome; this aspect is essential to meet the energy and the aminoacidic requirements of the animals and to maintain a healthy digestive system.

In order to achieve these results we propose that the minimum requirement of pdNDF fermented in the rumen should be at least equal to the amount of starch degraded in the rumen.

It is important that daily ration ensure an adequate amount of "long" fiber (mainly from forage) which are responsible of maintaining right chewing time, saliva production and physiological motility of rumen. This parameter known as physically effective fiber (peNDF) first introduced by Mertens many years ago (1997) has been recently widely revised (White *et al.*, 2017). The main factor to consider for peNDF calculation is the size of the particles; however, even particle's weight, amount of uNDF, and rate of digestion of pdNDF, have a great impact on peNDF efficacy in terms of rumination time and eating behavior. Also the "fragility" of the forage (different between grasses and legumes) can be considered but this aspect is difficult to measure yet.

From a practical perspective among forages, straw is the best "chewing-promoter", even when fed at small particle size (< 1-2 cm; Fustini *et al.*, 2011); this effect can be justified by the slow rate of pdNDF degradability, its high buoyancy characteristics and the low fragility under teeth chewing. Based on this experimental data the straw peNDF values can be "forced" to 110-115% of the aNDFom. For this reasons, in many cases, the inclusion of a small quantity of straw could be sufficient to efficiently cover the uNDF and peNDF requirements.

Moreover, the daily individual chewing time could be measured in several farms, thanks to specific sensors applied to the animal's neck. For high yielding cows, rumination time should be over 450-480 minutes a day; in these conditions, rations can be more precisely adjusted to optimize the digestive function of animals.

Soluble fiber

Mainly represented by pectins and some fraction of hemicellulose; soluble fiber (SF) generally is not directly analysed, but estimated using the following equation:

SF = 100 – (aNDFom + Crude Protein + Ether Extract + Ash + Starch + Sugars + Organic acids)

SF is considered a very rapid "fuel" for cellulolytic bacteria. Legumes, "white grains", and by-products, like beet pulp, are rich in these compounds.

Different trials have been done to evaluate possible replacement of forages and starch with soluble fiber sources (Allen *et al.*, 2013). Results are generally interesting, since milk produced is not affected, while milk fat increases, thanks to an improved butyrate production (both ruminal and intestinal). A significant result obtained by Allen *et al.* (2013) is related to a slower fattening process of cows in mid lactation when dietary corn was replaced by beet pulp. In this stage of lactation, endocrinal and metabolic assets vary, and peripheral tissues are more insulin–sensitive. Insulin production is stimulated by propionate produced in the rumen from starch, and by the glucose absorbed in the intestine. In conclusion, with a more appropriate use of SF it is possible to reduce the risk of "fat cow syndrome".

On the other hand, it is also important to remember that if the soluble fiber escapes the rumen, it could reduce the absorption of other nutrients in the intestine, being responsible of several disorders, like diarrhea, and caecal abnormal fermentations. These effects are well known in monogastric animals, in particular when cereals like barley, oat or wheat are used.

Starch

CHO commonly used to increase dietary energy support.

Starch structure may vary due to different plant sources, technological treatments, and storage management. Ruminal and intestinal digestibility widely change consequently. On a lab side, starch evaluation is well standardized, while its digestibility is not. Up to date, starch digestibility is estimated with 7h in vitro fermentations, but the proper prediction of both digestion and passage rates is far from being achieved, and thus still under debate.

Several works have been done to define best inclusion levels of starch in diet, depending on milk yield and stage of lactation. Keeping in mind all the different issues already mentioned, it is common to consider starch as a two-fractions compound: the first is the rumen fermentable, while the second is digested in the intestine.

Considering the factors described above, range of inclusion varies, and could be considered between 18-20% and 28-30% DM, in relation to the amount of starch that has to be fermented in the rumen and digested in the small intestine.

A possible approach in terms of ration balancing, is to equalize the amount of both pdNDF and starch digested in the rumen.

Major concern about fermentable-starch inclusion is related to the risk of sub-acute rumen acidosis. This disorder is not always easy to diagnose, and in any given farm, not all animals are affected, even if fed with the same diet (Khiaosa-ard *et al.*, 2018).

Recent researches conducted at the University of Bologna, underline that the response is strictly individual, and varies a lot among animals.

In general, practical and scientific expertise suggests that starch-rich rations deeply modify the microbial ecosystem in the rumen, inducing severe shifts of microbial populations, which affect animal metabolism and production performance. It was observed in recent works that such changes would reflect in severe alteration of rumen epithelium, leading to an increased local and general inflammatory status, which in turn promotes SARA associated pathologies, such as laminitis or liver disease (Zebeli & Ametaj, 2013; Garcia *et al.*, 2017).

Sugars

"Simplified" CHO fraction, represented by monosaccharide (single molecules), disaccharides (from 2 to 20 units of monosaccharides) or oligosaccharides (long chains).

Monosaccharides can have from 3 to 6 carbon atoms. The

6-carbon atoms types, also called hexoses sugars, such as glucose, fructose or galactose) are usually rapidly fermented in the rumen, while pentoses (xylose, mannose, arabinose, contained in forages) are slower as reported in Table 1 (Miron, 2002).

Table 1. Ruminal degradability of the hexoses monosaccharides - glucose and fructose – and of pentose xylose.

Sugar	Digestibility %
Glucose	73,1
Fructose	89,0
Xylose	53,6

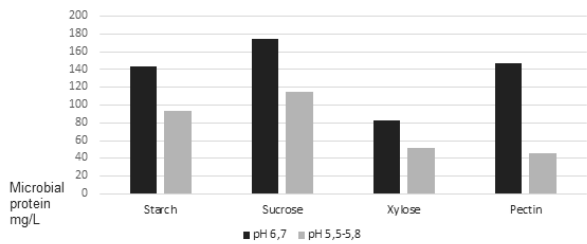
Among disaccharides, sucrose and maltose (hexoses) are easily fermented in rumen fluid, while xylose (pentoses) is not; also lactose required a certain "lag-time".

It has been assumed that 100% of the Mono and disaccharide sugars escaping fermentation will be digested in the small intestine. This may be true for the 6 carbon sugars from cane and beet molasses, but there is evidence that lactose is not as well digested.

Research has shown that 5 carbon sugars which will predominantly come from the hemicellulose from the breakdown of fiber are not as well digested in the small intestine and only to a certain extent in the hindgut.

Nutritional role of sugars is to supply the microbiome with rapidly available energy (table 2), but also to modulate rumen functions, stimulating specific niches, and to preserve the status of the epithelium.

Table 2. Effect of different sources of carbohydrates in the synthesis of microbial protein in vitro (Strobel, H. J., & Russell, J. B., 1986).



Several studies have reported improvements in ruminal butyrate concentrations when dietary sugar levels were increased as a partial replacement for cereal grain starch (DeFrain *et al.*, 2004, 2006; Chibisa *et al.*, 2015; Oba *et al.*, 2015) and this mechanism can explain the major sugars advantages observed in the field:

-HIGHER RUMINAL EFFICIENCY: butyrate is a growth factor for ruminal epithelium (Malhi *et al.*, 2013). Dairy diets containing higher percentages of sugars can increase its production and therefore promote a more efficient energy absorption through the ruminal papillae.

-PH STABILITY: Butyrate generates only one H^+ while others VFA (volatile fatty acids) like propionic and acetic generate 2 H^+. That means that by increasing butyrate proportion production and promoting a faster absorption of all VFA in the rumen, sugars are able to better control rumen PH in comparison with starch.

-MILK FAT INCREASE: sugars stimulate the growth of *Butyrivibrio fibrisolvens* bacteria that produce butyrate. This lead to an inhibition of ruminal trans-10 biohydrogenation pathway, explaining the higher milk fat synthesis generally observed when substituting parts of starch with sugars in the ration of ruminants (Sun et al, 2015)

The sugars therefore act as modulators of the ruminal microbiota and improve the trophic state of the ruminal mucosa when adequately integrated in the rations.

Another interesting aspect related to the presence of sugars in the rations is related to their influence on the digestibility of the fibre (Broderick et al, 2008) which could be, at least in part, mediated by a greater presence of rumen fungi. The increase in fibre digestibility can also explain the general positive impact on feed intake when sugar is added to the rations.

The effects on nitrogen metabolism are also interesting. In 1993 Chamberlain *et al.* showed that the soluble sugars are superior to starch as an energy source for nitrogen fixation in the rumen microbial. Those evidences were also illustrated in the work of Pina, 2010

Table 3. Effect of different sources of carbohydrates microbial protein synthesis (Pina, 2010).

	Silage	Starch	Xylo	Sucr	Lact	Fruct
Rumen ammonia mg/l	255	213	180	157	158	164
Microbial protein synthesis, g/day	64	74	82	93	89	86

A greater nitrogen fixing in the rumen leads to a reduced nitrogen loss through faeces and urine providing beneficial results to the environment as demonstrated by Hristov *et al.*, (2005) but not by Broderick *et al.*, (2008).

Glycerol is a liquid by-product obtained from biodiesel production, and is available as animal feedstuff since several years. Glycerol is a sugar alcohol, with three hydroxyl groups (-OH) that are responsible for its solubility in water.

Three pathway of glycerol in the rumen have been estimated, and include passage (13%), fermentation (44%) and absorption (43%). Early reports on glycerol suggested rapid fermentation to propionate by ruminal bacteria. In vitro fermentation studies suggested that *Selenomonas spp.* were the major fermenters of glycerol, with the main products being propionate, lactate, succinate and acetate. However, other end products from glycerol fermentation have been reported. The most consistent response from both in vitro and in vivo experiments appears to be a slight increase in proportion of propionate and a greater increase in butyrate (Krebbiel C.R., 2008). Glycerol has proposed as glucose precursor for dairy cows or for ketosis treatment, with modestly favorable results not comparable with those obtained by the use of Propylene Glycol (Overton, 2007).

Feeding 1 kg/head/day of glycerol instead of 1 kg of dry corn meal positively influenced intake and milk fat content and fat corrected milk (Formigoni *et al.*, data not published). Results obtained by Donkin *et al.*, (2007) did not confirm the improvement of feed intake and milk production but a reduction in milk urea N content has observed indirectly indicating a more rapid bacteria growth.

Organic acids

Organic acids (citric, aspartate, fumarate and malate) cannot be strictly considered among the carbohydrate fraction but their content in young fresh forages and hays rapidly dehydrated are important representing up to 4-5% of the dry matter (Callaway et al, 1997; Formigoni *et al.*, 2003), (Table 4). Organic acids are

able to modify ruminal and intestinal fermentation stimulating and/or depressing the activity of specific bacteria. Malic acid in particular is an important metabolite for ruminal microbial population since it improves the uptake of lactic acid by *Selenomonas ruminantium* (Evans and Martin, 1997) and *Megasphaera elsdenii* (Rossi and Piva, 1999). Several studies have shown the benefit of adding malic acid to the diet of steers and dairy cows on ruminal fermentation (Martin, 1998; Sahoo and Jena, 2014).

Table 4. Influence of time and drying method on organic acids content of alfalfa (g/kg)

Time after cutting, hours	Citric	Malic	Aconitic	Fumaric	Total
1	11.14	27.36	1.22	2.90	42.62
12	9.35	27.49	0.84	2.99	40.67
24	9.57	26.41	0.74	2.93	39.65
48	8.98	23.93	0.76	2.97	36.64
(*)48	8.65	22.47	0.55	2.67	34.34
72	6.70	19.65	0.46	2.42	29.23

(*) Dehydrated with air at low temperature (<100°C); (Formigoni *et al.*, 2003).

Molasses composition

Recently, different trials were made at the University of Bologna to better clarify molasses composition and variability, since any reference in literature is not accurate enough, and up to 15% of the dry matter content was still unknown.

The study analyzed 16 cane and 16 beet molasses samples sourced worldwide. Gravimetric method was used to determine DM, Kjeldhal for CP, sugars and starch via enzymatic method, minerals by ICP, organic acids and other components by HPLC. This approach was able to characterize 97.4% and 98.3% DM of cane and beet molasses, respectively.

Cane showed a lower dry matter content compared to beet molasses (76.8±1.02 vs 78.3±1.61% a.f.), as well as CP content (4.8±1.7 vs 10.5±1.1% a.f.), with a minimum value of 1% a.f. in cane to a maximum of 12% a.f. in beet molasses.

The amount of sucrose was higher in beet compared to cane molasses (48.4±1.5 vs 37.5±4.8% a.f.), but with high variability even within cane molasses (51.00 max to 33.31 min, % a.f.) and beet.

Glucose and fructose were detected in cane molasses (4.06±2.07 and 6.20±2.17% a.f., respectively), showing high variability but almost no monosaccharides were detected in beet molasses.

Organic acid composition differed among molasses. Lactic acid was more concentrated in cane compared to beet (4.69±2.16 vs 3.48±1.37% a.f.), varying from 9.77% maximum to 1.23% minimum within cane molasses. Aconitic acid was found only in cane molasses, while glycolic acid in beet. The total sum of acids ranged from 2% to 14% a.f.

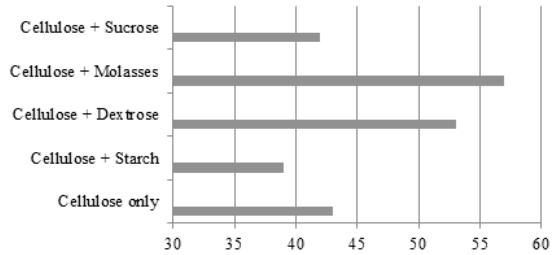
Sulfates, phosphates, and chlorides had a higher concentration in cane molasses, which showed a lower DCAD compared to beet (4.47±4.97 vs 53.94±33.36 meq/100g a.f.). Within the cane group, it varied from +117.63 to -58.59 meq/100g a.f., while in beet from +129.20 to +3.24 meq/100g a.f.

In conclusion, data obtained in this study demonstrates the significant differences in molasses composition, highlighting that a more accurate description and characterization is possible and strictly required especially if its use in animal feed is to be fully optimized.

Impact of sugars and liquid feed on fiber digestibility

Many years ago, it was reported that cellulose digestion is increased by molasses inclusion, but not by starch (Table 5; Arias *et al.*, 1951); moreover, the use of pure sucrose did not produce comparable results obtained with molasses, confirming that this product is not simply a "sugar source".

Table 5. Fiber digestion (24h in vitro) with different carbohydrates



In our lab, a similar approach was used to evaluate in vitro fiber digestibility at 8, 24 and 48 hours, by adding to fermentation flasks different substrates (Table 6); when molasses, liquid feeds or liquid products were added (6% on DM basis) to a common forage (corn silage), fiber digestibility was higher compared to the forage itself. In particular, molasses resulted in higher digestibility than white sucrose addition and milk whey.

Using the same procedure, 3 different liquid feeds were tested; results indicated that "Milker" was able to significantly improve fiber digestibility.

The liquid feed "Milker" was composed by a blend of different sugars sources and soluble nutrients (molasses, maltose, organic acids, etc.) that gave the greatest fiber digestibility value at 48 hours.

Results obtained by the addition of liquid products blends ("liquid feeds") specifically formulated, suggest that it could be possible to better manipulate rumen fermentations than using one simple sugar source.

Table 6. Influence of different energetic substrates on aNDFom digestibility evaluated *in vitro*.

	aNDFom *in vitro* digestibility		
Product	8h	24h	48h
Cane Molasse	+10,61	+19,98	+20,19
Beet Molasse	+11,16	+16,57	+17,86
Starch pure	+9,65	+14,26	+15,03
Sugar white (sucrose)	+7,49	+10,84	+7,42
Glycerol	+10,08	+7,40	+7,77
Whey Milk	+5,68	+2,29	+2,54
Milker (ED&F-Man)	+3,19	+25,45	+27,18

Impact of molasses on in vitro gas production and microbial population

To better investigate the specific effects of sugars and molasses overall rumen environment, in vitro sugar digestibility, gas production, VFA production and impact on microbial populations was tested with the use of cane and beet molasses. It was observed that hexoses are well digested (up to 95%) within the first 2 hours, while pentoses are slower, xylose in particular (80% on average after 24h; Figure 1).

Sucrose in molasses was completely degraded within 1-2 hours confirming its high rate of degradation. The Kd values considered for sugars from beet and cane molasses in the database of the last version of the Cornell Net Carbohydrates and Protein System (CNCPS vs 6.55) were changed from 60 to 20%/hour; based on our preliminary data, the previous values considered in CNCPS were probably more appropriate to describe the degradation of sugars contained in molasses.

In terms of gas production, the addition of molasses anticipated the exponential phase, which occurred within 2h earlier than "blank" samples (4h). The addition of molasses would induce a shift of VFAs produced at certain time points (1h-24h), decreasing acetate and promoting butyrate (Figure 2).

Figure 1. Single sugar *in vitro* digestibility at different time points.

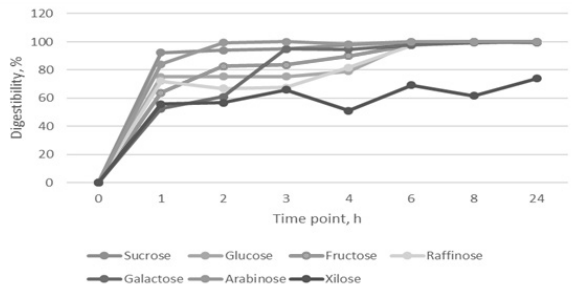
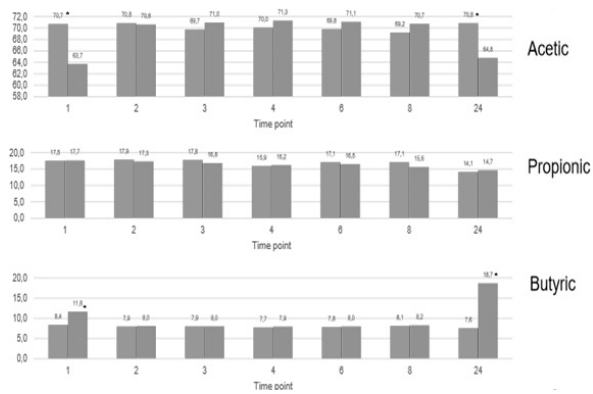


Figure 2. *In vitro* volatile fatty acids produced at different time points (% of the total)



The addition of molasses did change also the microbiome. It was observed an increase of *S.bovis* but also of *M.elsdenii*, which ferment the lactate produced by *Bovis*. Moreover, *Butyrivibrio spp.* were promoted by molasses addition, and this could partially explain the higher fiber digestibility as well as the increased butyrate. Despite the higher energy supplied, methanogenic population were not affected by molasses addition. *Ruminococcaceae* family varied depending on the molasses used, but no significant differences were observed.

How much sugar in our rations?

Considering the results in literature and of the preliminary data obtained in our lab, the approach to the dairy cow ration formulation should be oriented to separately consider the individual sugar composition of each ingredient. This more precise approach will be possible when the analytical capabilities for sugar determination will be improved.

Recently, De Ondarza *et al.* (2017) analyzed 24 researches using a mixed model linear regression analysis. They considered different level of sugars added in the rations (control, 1.5–3%, 3–5%, vs. 5–7% on dry matter), days in milk category within treatment, control milk yield category within treatment, and several continuous nutrient variables.

In cows producing >33 kg of milk/d, added dietary sugar had a greater response (2.14 kg of 3.5% FCM/d; $P < 0.0001$) than in cows producing <33 kg of milk (0.77 kg of 3.5% FCM/d). Additional dietary sugar did not affect milk fat or protein percentage ($P > 0.15$). Nutrient variables with a positive effect on 3.5% FCM yield included added starch and protein B2 (insoluble in boiling neutral detergent but soluble in boiling acid detergent solution). Nonlinear statistical analysis predicted the optimal total dietary sugar to be 6.75% of diet DM. Authors concluded that to optimize 3.5% FCM yield response when feeding additional dietary sugars, a low to moderate starch diet should be fed (22 to 27% of diet DM) in combination with a moderate to high soluble fiber content (6.0 to 8.5% of diet DM).

These data asses the high importance to balance the different CHO fractions, since each one of them is able to specifically drive and impact the composition of the rumen microbiome and more generally the animal responses.

Liquid feeds

Liquid feeds are very interesting for different reasons, even thanks to their ability to help nutritionists or farmers while rationing considering it takes out the high variability of molasses composition. If we think for example in the big concern of using molasses in dry cows because of the high variability of potassium content, a liquid feed with low, neutral or even anionic DCAD could fit perfectly those group of cows. In the contrary, nutritionists could chose higher DCAD liquid feeds to be used during the summer, for example.

Furthemore, specifically formulated liquid feeds can improve ration palatability more than just pure molasses.

Liquid feeds based on cane and beet molasses can improve ration palatability, and reduce any sorting activity of the animal (DeVries *et al.*, 2012). Moreover, when dry TMR is prepared without silages, liquid feeds are very efficient in reducing the presence of dust.

Liquid feeds can be used to support and convey different products like glycerin, propylene glycol, whey, distillers, aminoacids, NPN sources, organic acids, additives, minerals, etc.

Digestion of the different nutrients in liquid feeds changes depending on their source; in particular, digestion rates (Kd) change because of the origin of such nutrients, while passage rates (Kp) are generally the same for all the components solubilized. Passage rate for liquid feeds is much more higher than solid feed. In high producing cows, with high dry matter intake, it is estimated a Kp of 1.5-2.0%/h for forages, 5-8%/h for concentrates, and more than 14-16%/h for nutrients solubilized in rumen liquor. According to this numbers, a reasonable amount of nutrients from liquid feeds would reach the intestine and can be absorbed depending on respective digestion rates.

CONCLUSION

Liquid feeds are interesting fort their dietetic and technological roles; they can improve palatability of the ration, reduce cow sorting activity and limit dust presence.

The use of liquid feed rich in sugars and other soluble components (organic acids, minerals, urea, additives, etc.) should be a practical and easy way to properly integrate and balance rations in terms of specific nutrients able to:

- increase dry matter intake, milk production and fat content;

- manipulate rumen and intestinal fermentation;

- improve fiber digestion and nutritional efficiency;

- reduce risk of rumen sub-acidosis, mucosa damages and the innate immune system stimuli with possible beneficial effects on animal health.

Acknowledgment

Authors thank ***EDF&Man*** *for supporting activity of researches and* ***Dr.Fagioli Luigi*** *for his analytical support and contribution.*

REFERENCES

- Allen, M., 2013. Adjust dietary starch throughout lactation. Feedstuff. 29th April 2013, pp 12-15.
- Arias, C., W. Burroughs, P. Gerlaugh, R.M. Bethke, 1951. The Influence of Different Amounts and Sources of Energy Upon In Vitro Urea Utilization by Rumen Microorganisms. J. Animal Sci. 10:683–692.
- Broderick, G.A., N.D. Luchini, S.M. Reynal, G.A. Varga, V.A. Ishler, 2008. Effect on Production of Replacing Dietary Starch with Sucrose in Lactating Dairy Cows. J. Dairy Sci. 91:4801–4810.
- Callaway, T. R., S. A. Martin, J. L. Wampler, N. S. Hill, G. M. Hill, 1997. Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. J. Dairy Sci. 80:1651-1655.
- Chamberlain, D. G., S. Robertson, J. J. Choung, 1993. Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. J. Sci. Food Agric. 63:189-194
- Chibisa, G. E., P. Gorka, G. B. Penner, R. Berthiaume, T. Mutsvangwa, 2015. Effects of partial replacement of dietary starch from barley or corn with lactose on ruminal function, short-chain fatty acid absorption, nitrogen utilization, and production performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 98:2627–2640. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8827
- Cotanch, K. W., R. J. Grant, M. E. Van Amburgh, A. Zontini, M. Fustini, A. Palmonari, A. Formigoni., 2014. Applications of uNDF in ration modeling and formulation. Pages 114–131 in Proc. Cornell Nutr. Conf., Dept. Anim. Sci., Cornell Univ., Ithaca, NY
- DeFrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, D. J. Schingoethe., 2004. Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma β-hydroxybutyrate in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87:2486–2494.
- DeFrain J.M., Hippen A.R., Kalscheur K.F., Schingoethe D.J., 2006. Feeding lactose to increase ruminal butyrate and the metabolic status of transition dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 267-276.
- De Ondarza, M.B., S.M. Emanuele, C.J. Sniffen, 2017. Effect of increased dietary sugar on dairy cow performance as influenced by diet nutrient components and level of milk production. Prof. Anim. Sci. 33:700–707. doi:10.15232/pas.2017-01648.
- DeVries, T.J. and R.M., Gill, 2012. Adding liquid feed to a total mixed ration reduces feed sorting behavior and improves productivity of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:2648–2655.
- Donkin, S.S., M.R. Pallatin, P.H. Doane, M.J.Cecava, H.M. White, E. Barnes, S.L. Koser, 2007. Performance of dairy cows fed glycerol as a primary feed ingredient. J. Dairy Sci. 90 Suppl.1:350.
- Evans, J. D. and S. A. Martin, 1997. Factors affecting lactate and malate utilization by Selenomonas ruminantium. Appl. Environ. Microbiol. 63, 12, 4853-4858.
- Formigoni A., G. Biagi, A. Piva, P. Pezzi, 2003. The drying method affects the organic acid content of alfalfa forages. Ital. J. Anim. Sci., Vol. 2 Suppl. 1, 243-245.
- Fustini, M., A. Palmonari, E. Bucchi, A.J. Heinrichs, A. Formigoni, 2011. Chewing and ruminating with various forage qualities in non-lactating dairy cows. Prof. Anim. Sci. 27:352–356.
- Fustini, M., A. Palmonari, G. Canestrari, E. Bonfante, L. Mammi, M. T. Pacchioli, G.C. J. Sniffen, R. J. Grant, K. W. Cotanch and A. Formigoni, 2017. Effect of undigested neutral detergent fiber content of alfalfa hay on lactating dairy cows: Feeding behavior, fiber digestibility, and lactation performance. J. Dairy Sci. 100:4475-4483.
- Garcia, M., B.J. Bradford, T.G. Nagaraja, 2017. Invited Review: Ruminal microbes, microbial products, and systemic inflammation. The Professional Animal Scientist Volume 33, Issue 6, December 2017, pp 635-650.
- Hristov, A.N., J.K. Ropp, K.L. Grandeen, S. Abedi, R.P. Etter, A. Melgar, A.E. Foley, 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 83:408–421.
- Humer, E., R.M. Petri, J.R. Aschenbach, B.J. Bradford, G.B. Penner, M. Tafaj, K.H. Südekum, Q. Zebeli, 2018 *Invited review:* Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. J. Dairy Sci., 101, 2, 872–888.
- Khiaosa-ard ,R., P. Pourazad, S. Aditya, E. Humer, Q. Zebeli, 2018. Factors related to variation in the susceptibility to subacute ruminal acidosis in early lactating Simmental cows fed the same grain-rich diet. Anim. Feed Sci. Technol. 238:111-122.
- Krehbiel, C. R., 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. J. Dairy Sci. v. 86, n. 1, p. 392, Supplement.
- Malhi, M., H., Gui, L. Yao, J.R., Aschenbach, G. Gäbel, Z. Shen, 2013. Increased papillae growth and enhanced short-chain fatty acid absorption in the rumen of goats are associated with transient increases in cyclin D1 expression after ruminal butyrate infusion. J. Dairy Sci. 96:7603–7616.
- Martin S.A., 1998. Manipulation of Ruminal Fermentation with Organic Acids: A Review. J. Anim. Sci., 76:3123–3132.
- Mertens, D. R., 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. J. Dairy Sci. 80:1463–1481.
- Miron D., M. Petreikov, N. Carmi, S. Shen, I. Levin, D. Granot, E. Zamski, A.A. Schaffer, 2002. Sucrose uptake, invertase localisation and gene ex-pression in developing fruit of Lycopersicon esculentum and the sucrose-accumulating Lycopersicon hirsutum. Physiol. Plant 115:35–47.
- Oba, M., J. L. Mewis, Z. Zhining, 2015. Effects of ruminal doses of sucrose, lactose, and corn starch on ruminal fermentation and expression of genes in ruminal epithelial cells. J. Dairy Sci. 98:586–594.

- Overton, T. R., 2007. Use of glycerol in dairy rations. Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. Syracuse, NY pp. 73-79.
- Rossi, F. and G. Piva, 1999. Effect of malic acid on growth and metabolism of Megasphaera elsdenii - a rumen bacterium [cattle]. Proc. XIII A.S.P.A. Conger, Piacenza, Italy, 342-344.
- Sahoo, A. and B. Jena. 2014. Organic acids as rumen modifiers. Int. J. Sci. Res., 3 11, pp. 2262-2266.
- Strobel, H.J. and J.B. Russell, 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69:2941-2947.
- Sun X., Y. Wang, B. Chen, X. Zhao, 2015. Partially replacing corn starch in a high-concentrate diet with sucrose inhibited the ruminal *trans*-10 biohydrogenation pathway *in vitro* by changing populations of specific bacteria. J. Animal Sci. Biotechnol. 6:57.
- Pina, D. S., R.F.D. Valadares, S. C. Valadares Filho, M. L. Chizzotti, 2010. Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: Valadares Filho, S. C., Marcondes, M. I., Chizzotti, M. L. Paulino, P. V. R. Org.. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados - BR - Corte. 2. ed. Viçosa, MG: UFV. p. 13-46.
- White R.R., M.B. Hall, J.L. Firkins, P.J. Kononoff, 2017. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. II: Development of feeding recommendations. J Dairy Sci. 100, 9569-9584.
- Zebeli Q., Ametaj N.B. 2013. Linking rumen disorders to immunity in cattle: old and new paradigms. Albanian J. Agric. Sci.;12 (1): 57-60.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE EL EXAMEN FÍSICO, DATOS DE LABORATORIO, Y TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO COMPLEMENTARIAS EN BOVINOS CON ABDOMEN DISTENDIDO

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Diplomate, ACVIM, ECBHM

Departamento de ciencias clínicas de animales grandes, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Biomédicas, de la Universidad de Texas A&M University en College Station, Texas, EE.UU.

INTRODUCCIÓN

Hay muchas causas diferentes que pueden causar el abdomen distendido en el ganado bovino. El enfoque diagnóstico se ve simplificado si asignamos al paciente a uno de cinco categorías, lo cual reducirá considerablemente nuestra lista de diagnósticos diferenciales. En inglés, podemos generar una manera fácil de recordar las categorías de distensión abdominal - las 5 F de la distensión abdominal: Fluido, Flatulencia, Heces, Feto, y Grasa (Fluid, Flatus, Feces, Fetus and Fat). En español, serán 3 F, una H y una G.

Ciertamente, la semiótica de la enfermedad y la historia son importantes a la hora de establecer y priorizar la lista de los diagnósticos diferenciales para la distensión abdominal. Sin embargo, en todo lo relacionado con esta ponencia, nos centraremos únicamente en el examen físico, el examen ecográfico, y la evaluación del laboratorio y cómo estas técnicas de diagnóstico puede ayudar a diferenciar entre las categorías, así como dentro de las categorías, para llegar a un diagnóstico específico.

A continuación viene una lista de los diagnósticos diferenciales importantes dentro de cada categoría.

Grasa

Fluido - fluido libre en la cavidad abdominal

- Ascitis - secundario a la insuficiencia cardíaca congestiva o hipoproteinemia.
- Peritonitis - secundario a una úlcera abomasal, útero perforado, recto perforado, contaminación quirúrgica, herida, etc.
- Uroperitoneo - ruptura de la vejiga o fuga en el sistema urinario.

Flato - gases en el tracto gastrointestinal

- Timpani ruminal (gas libre o espumoso)
- Dilatación cecal
- Vólvulo abomasal
- El íleo

Heces - material sólido o líquido en el tracto gastrointestinal

- engrasamiento por carbohidratos / acidosis ruminal
- Indigestión vagal (Síndrome Hoflund) - fallo en el transporte omasal, impactación abomasal, y obstrucción parcial de los pre-estómagos.
- Obstrucción del intestino delgado (intussuscepción, síndrome hemorrágico del yeyuno, torsión de la raíz del mesenterio)
- Vólvulo cecal
- atresia coli, recti o ani

Feto

- Fetos múltiples
- Hidramnios, hidroalantoide

Fluido

En lo que refiere a esta ponencia, definiremos “fluido” como cualquier fluido en el abdomen que está fuera del tracto gastrointestinal.

El contorno abdominal. El fluido abdominal libre suele producir una distensión simétrica bilateral del abdomen. Una cantidad sustancial de fluido libre en el abdomen a menudo va acompañado de una reducción del apetito y, por lo tanto, se reduce el tamaño del rumen. Normalmente, este rumen reducido contendrá gases y el rumen flotará causando una distensión en la fosa paralumbar izquierda. El fluido abdominal libre y el rumen flotante pueden imitar la forma de un abdomen con indigestión vagal. Se pueden utilizar otros signos clínicos e imágenes para diferenciar entre un abdomen lleno de fluido y un rumen y retículo distendidos.

Ping. Normalmente no hay pings asociados con un abdomen lleno de fluido.

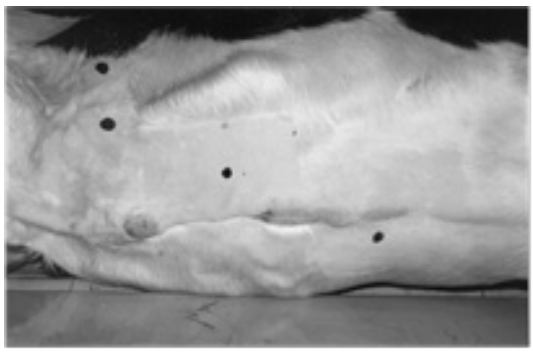
Peloteo (Ballottement). El peloteo de un abdomen lleno de fluido produce la sensación de un gran saco de fluido, normalmente sin estructuras firmes. En los animales que son lo suficientemente pequeños para hacer el peloteo de un lado del abdomen mientras se palpa el otro lado, se puede sentir a menudo una ola de fluido al golpear el abdomen con firmeza con el puño mientras se coloca la palma de la otra mano en el otro lado del abdomen. En los animales más grandes, esto se puede conseguir con dos personas, una a cada lado.

La sucusión - Uno puede llegar a pensar que los sonidos de chapoteo pueden oírse fácilmente en un abdomen distendido con fluido. Sin embargo, para conseguir esos sonidos de chapoteo, tiene que haber gas dentro de la estructura llena de fluido. A menudo, un abdomen lleno de líquido no producirá el sonido porque no hay una interacción entre el fluido y el gas.

Exploración rectal - Uno de los rasgos más notables de la exploración rectal en el caso de un abdomen lleno de fluidos es la ausencia de estructuras. Cuando se ve un abdomen distendido, normalmente se espera encontrar estructuras, como el rumen, que sean las causas de la distensión. En el caso de un abdomen lleno de fluidos, no se pueden palpar las estructuras o estas son muy pequeñas. En los pacientes con un rumen flotante

pequeño, el rumen se puede palpar en forma de una estructura llena de gas en el cuadrante dorsal izquierda del abdomen, pero no se puede palpar el saco ventral. Esto distingue un abdomen lleno de fluido de un abdomen distendido causado por el rumen lleno de fluido.

Exploración con ecografía - La ecografía es muy útil a la hora de determinar que el fluido es la causa de un abdomen distendido. Una sonda ecográfica rectal básica del tipo que se utiliza para la diagnosis de la gestación es suficiente para establecer que hay fluido en el abdomen. Además de establecer la presencia de fluido, también da una buena idea del tipo de fluido. Un fluido es hipoecoico (negro) significa que hay un bajo nivel de celularidad. La ascitis causada por una insuficiencia cardíaca y un caso de uroperitoneo se verán a menudo acompañados de una acumulación de fluido hipoecoico. En el caso de la uroperitoneo, a vece también se ve fibrina flotando en el fluido. El fluido ecogénico normalmente indica celularidad y fibrina, lo cual, a su vez, apunta a una peritonitis.



Abdominocentesis. Si ya se ha realizado una ecografía, es fácil elegir un punto donde practicar la abdominocentesis. Sin un guía por ecografía, se recomiendan tres sitios. El flanco ventral derecho delante de la ubre, justamente medial o lateral a la vena epigástrica superficial caudal (vena de leche) es el lugar más probable de donde se puede sacar fluido. Este es el lugar preferido para hacer una abdominocentesis rutinaria. Si se sospecha una peritonitis secundaria a una ulcera abomasal, el mejor lugar es el punto entre el xifoides y el ombligo a la derecha de la línea media. Si se sospecha de un retículo-peritonitis, es mejor insertar la aguja justo detrás de la xifoides, un poco a la izquierda de la línea media. La razón de recomendar varios puntos es que los bovinos limitan las lesiones abdominales muy bien. El fluido de distintas regiones del abdomen puede tener una naturaleza muy diferente. Siempre se debe intentar recoger el fluido cerca de la lesión de la que se sospecha. Yo prefiero usar una aguja del calibre 18, 4 cm (o más largo), pero también es aceptable una cánula de pezón insertado a través de una pequeña incisión. Se debe utilizar un pequeño tubo de sangre con EDTA para recoger la muestra. Sed pacientes. A veces el fluido tarda un minuto o más en fluir porque la punta de la aguja puede estar bloqueada temporalmente por el omento o el intestino. Si aún no has podido identificar el fluido mediante una ecografía, no esperes tener éxito en más de la mitad de los intentos de obtener el fluido. Lo normal es cualquier cosa desde un par de gotas a un par de mililitros. Si puedes recoger más de 2 mL de fluido, se deben considerar algo anormal. Si el fluido abdominal es fácil de recoger, significa que hay algo anormal en el abdomen. Además, se puede obtener información simplemente mirando al fluido. La ascitis y la orina suelen ser relativamente claros y pueden tener un color ligeramente amarillento. La peritonitis séptica puede variar de amarillo a marrón-rojizo. A menudo, se pueden ver pequeños trozos de fibrina y el fluido puede tener un olor a podrido. Esto es una mala señal desde el punto de vista del pronóstico. Los resultados de estudios recientes han facilitado la interpretación del análisis de líquido abdominal. Los estudios recientes demuestran que el recuento de glóbulos blancos (WBC) y la proteína total pueden ser engañosos. La indicación más fiable de la sepsis es una proporción de neutrófilos superior al 50% y una proporción de eosinófilos por debajo del 10% del total de células blancas en el fluido. Si ha habido una perforación del abomaso, se puede ver material vegetal a simple vista o por medio de un microscopio. Para diagnostica un uroperitoneo, siempre se analiza en busca de creatinina y no de urea ya que la urea entra y sale del abdomen muy rápidamente. En el caso de uroperitoneo, la creatinina del fluido abdominal debe ser 2 veces mayor que la creatinina en suero.

Evaluación en el Laboratorio Es poco probable que un recuento sanguíneo completo y un panel químico de suero lleven a un diagnóstico de una de las enfermedades de este tipo. Normalmente, hay maneras más directas de llegar a un diagnóstico definitivo. Sin embargo, si uno todavía está considerando otros tipos de distensión abdominal, los datos de laboratorio pueden ser útiles para refinar la lista del diagnóstico diferencial. También puede ser útil en la prognosis y para la terapia. En los casos de peritonitis aguda, el recuento de células blancas (WBC) y la diferencial pueden servir para definir la gravedad de la enfermedad. Si el recuento de glóbulos blancos es bajo y hay un desplazamiento degenerativo a la izquierda de los neutrófilos, esto sugiere una sepsis grave y empeora el pronóstico de la recuperación. En una etapa posterior de la enfermedad, se puede presentar una neutrofilia junto con niveles elevados de fibrinógeno. El fibrinógeno en la peritonitis es interesante. En el caso de una peritonitis localizada, yo he observado que el fibrinógeno es frecuentemente elevado. En casos de peritonitis generalizada severo, a vece el fibrinógeno está por debajo el intervalo de referencia. Creo que esto se puede deber a que se está depositando tanta fibrina en el abdomen en respuesta a la enfermedad. En el caso de una peritonitis crónica, la globulina en suero puede ser elevado y la relación A:G puede disminuir, lo cual es evidencia de una enfermedad inflamatoria crónica. Además del fibrinógeno/fibrina depositándose en la cavidad abdominal, se deposita también albúmina y, en cierto medida, globulina. En muchos casos de peritonitis séptica grave, la causa última de la muerte es la hipoalbuminemia/hipoproteinemia más que el shock séptico. Incluso si se consigue controlar la sepsis, la fuga de proteína al abdomen continúa y si se drena el fluido abdominal, la pérdida de proteína excede a la producción de proteína. La disminución progresiva de la concentración de albúmina sérica es una señal de un pronóstico precario para las vacas con peritonitis. En un uroperitoneo, como es de esperar, la creatinina en suero y la urea son generalmente elevadas a menos que la fuga en el tracto urinario es muy pequeña Además, los electrolitos de plasma pueden verse afectados gravemente. El sodio y el cloruro en la plasma pueden ser muy bajos pero, a diferencia de en la mayoría de otras especies, los bovinos normalmente no desarrollan una hiperpotasemia. La orina es muy bajo en sodio y cloruro, pero alto en potasio. Típicamente, los electrolitos se mueven a través del revestimiento peritoneal en su gradiente de concentración. Tiene sentido que el sodio y el cloruro se muevan hacía el fluido abdominal y fuera del plasma, y que el potasio abandone el fluido abdominal y se vaya al plasma. Mientras esto ocurre, los bovinos son capaces de excretar grandes cantidades de potasio en su saliva, que luego no se reabsorbe debido a la liberación de la aldosterona.

Flato

En el contexto de esta ponencia, el flato se refiere a gas en cualquier lugar del tracto gastrointestinal.

El Contorno Abdominal. El contorno abdominal de los bovinos, cuando el flato es la causa de la distensión, se determina, por supuesto, por qué víscera está distendida. Como el rumen es la víscera mayor y que se encuentra distendida con mayor frecuencia, nos centraremos en el timpanismo ruminal o meteorismo. El contorno abdominal típico asociado con el timpanismo ruminal es una distensión principalmente en el lado izquierdo y principalmente en el cuadrante izquierdo dorsal. Cuando la distensión es severa, también habrá algo de distensión en el lado derecho del abdomen. En el caso de meteorismo espumoso, la distensión es algo más simétrica y ligeramente menos pronunciada en el cuadrante superior izquierdo. El meteorismo espumoso se produce por el aumento de la tensión superficial del líquido en el rumen, lo que resulta en la acumulación de diminutas burbujas de gas y la producción de espuma. La espuma inhibe el eructo y produce el timpani ruminal. El meteorismo por gas libre se produce por una falta del eructo debido a la atonía ruminal, a una obstrucción del esófago, unas adherencias que impiden que el cardias se eleve por encima de la línea de fluido en el rumen, o por la posición, como el decúbito lateral.

Peloteo (Ballottement). Si el timpanismo ruminal viene acompañado de una distensión ruminal con líquido, como el engrasamiento por carbohidratos, el peloteo del rumen puede dar una sensación similar a cuando hay fluido en el abdomen. La fosa paralumbar izquierda estará obviamente llena de aire y será suave o será tensa si la presión intraruminal es elevada. Dando una palmada en la fosa paralumbar izquierda producirá un sonido hueco. Es inusual que una distensión por gas de una víscera abdominal distinta del rumen cause una distensión abdominal sustancial. Ocasionalmente, un vólvulo intestinal muy grande puede causar una distensión en el lado derecho. Un ciego muy distendido también puede verse en la fosa paralumbar derecha.

Ping. Un rumen distendido raramente produce pings. En su lugar, se producirá un tono más bajo. Si la distensión se encuentra en el lado derecho y es producido por un vólvulo abomasal o distensión del ciego, se podrá producir un ping clásico con la auscultación y una percusión simultánea.

Sucusión. Dependiendo de la consistencia del componente no gaseoso del rumen, se podrá oír un chapoteo durante el peloteo y la sucusión. Esto podría oírse en el lado izquierdo o derecho cuando el rumen está lo suficientemente distendido.

Exploración Rectal - en el caso del timpanismo ruminal, el rumen rellena la mayor parte del abdomen. El tapón del gas se puede palpar fácilmente por el recto. El vólvulo abomasal se puede palpar en muchas vacas lecheras; sin embargo, algunos Holstein son tan grandes actualmente que es difícil llegar hasta el vólvulo abomasal. Siempre debe ser posible palpar el vólvulo cecal.

Exploración por Ecografía. Una exploración por ecografía de un caso de flato no es necesaria generalmente. Además, una ecografía de una víscera llena de gas simplemente produce una reverberación artefacto.

La abdominocentesis es indicada en raras ocasiones en bovinos con una distensión debido al flato. De hecho, normalmente es una contraindicación porque el gas distiende a la víscera, normalmente el rumen, y aumenta la posibilidad de la perforación de la víscera y una posible laceración.

Evaluación en el Laboratorio. Los bovinos con gas y meteorismo espumoso raramente presentan cambios sustanciales en los parámetros de laboratorio. Los bovinos con una obstrucción esofágica y un meteorismo secundario también pueden presentar acidosis por la pérdida de saliva rica en bicarbonato a causa de la acidosis metabólica. Si la cause subyacente del timpanismo ruminal es una enfermedad inflamatoria crónica del tórax, las proteínas séricas pueden indicar la inflamación crónica. Hablaremos de los cambios relacionados con la obstrucción abomasal e intestinal más adelante.

Heces

En este contexto, consideramos heces a cualquier contenido sólido o líquido del tracto gastrointestinal desde el rumen hasta el recto. Algunos veterinarios usarán otra palabra que empieza con “F” en inglés, Feed (Alimento).

El Contorno Abdominal. El contorno abdominal típico de la distensión ruminal con contenido sólido o líquido es una distensión ventral en el lado derecho, y una distensión ventral y dorsal en el lado izquierdo. Muchas veces, también hay flato, lo cual contribuye a la distensión en la parte izquierda de la fosa paralumbar. Esto es lo que se conoce como un abdomen con forma de “papple”, una palabra que se forma combinando las palabras inglesas “pear and apple” (pera y manzana). El lado derecho del animal tiene forma de pera y el lado izquierdo toma la forma de una manzana. Esta forma se produce por la distensión del rumen, incluso en el lado derecho. Es tentador pensar que la distensión ventral derecha se debe al agrandamiento del abomaso, pero este no suele ser el caso. Incluso cuando hay una impactación abomasal, el rumen se llena mucho por la obstrucción del flujo de salida desde el rumen. Lo mismo ocurre en el caso de una intususcepción. Aunque el intestino delgado se dilata con el líquido y algo de gas, el volumen del intestino es relativamente pequeño. Sin embargo, el rumen no se vacía y, por lo tanto, sucede una distensión ruminal secundaria debido a una intususcepción. En el caso de atresia coli, recti y ani, el tracto gastrointestinal entero esta distendido y, por lo tanto, el contorno del animal es más simétrico que cuando sucede una distensión ruminal solamente.

Peloteo (Ballottement). Las conclusiones sobre el peloteo dependen de la causa de la distensión. Si la distensión es similar al engrasamiento por carbohidratos, entonces el contenido del rumen será relativamente líquido y, por lo tanto, no se sentirá una víscera sólida. A veces, en los casos de indigestión vagal, el contenido del rumen es seco y firme. En estos casos, el saco ventral del rumen puede ser peloteado por el lado derecho. Aunque es posible pelotear el abomaso, normalmente no se puede palpar un abomaso afectado desde el exterior del animal.

Sucusión. Cuando hay fluidos y gases en el rumen, se pueden oír sonidos de chapoteo al hacer la sucusión.

Exploración Rectal. Cuando hay una distensión del rumen, se puede palpar a través del abdomen. Prestar especial atención al saco ventral del rumen. En una indigestión vagal y la intussuscepción con una duración de varios días, esta zona del rumen estará muy distendida y será fácil de palpar. Un abomaso distendido es casi imposible de palpar por el recto. Por lo tanto, no es posible distinguir entre un fallo en el transporte omasal o una impactación abomasal basándose en una exploración física. Por supuesto, la obstrucción parcial del intestino al final de la gestación viene acompañada de un feto casi a término en el útero. Se puede palpar la intussuscepción por el recto, pero en mi experiencia, normalmente se encuentran bucles llenos de fluido en el intestino delgado. Típicamente, no se puede palpar

la intussuscepción. Si tienes suerte, sentirás una estructura larga y cilíndrica que es firme a la palpación; pero tendrás que tener suerte. Puedes descubrir melena o hematoquecia durante la exploración rectal en la caso de la intususcepción. A veces, las señales de la intussuscepción y del síndrome de yeyuno hemorrágico son muy similares. La intensidad de la hemorragia en el segundo caso es mayor generalmente. Recuerden que el rumen estará bastante agrandado en el caso de la intussuscepción crónica. Esto se ve más en bovinos de carne que en bovinos lecheros porque la enfermedad es normalmente más fácil de diagnosticar en los bovinos lecheros. Si el rumen está muy distendido y todavía sospecháis de una intussuscepción, considerad la posibilidad de vaciar el rumen y entonces palpar cuidadosamente en busca de bucles intestinales.

Exploración por Ecografía. La ecografía puede ser útil para identificar un abomaso distendido en caso de impactación abomasal y los bucles intestinales distendidos en la intussuscepción o síndrome de yeyuno hemorrágico. De nuevo, si tenéis suerte, quizás podáis visualizar la intussuscepción, que se parece a una diana con aros concéntricos en el intestino. Cuando hay una obstrucción del intestino delgado, el intestino estará lleno de fluido y no habrá motilidad o habrá muy poca motilidad.

La Abdominocentesis. Aunque hay cierto riesgo de perforar la intususcepción cuando el tracto intestinal está lleno de fluido y de materia sólida, la abdominocentesis puede ayudar a distinguir una indigestión vagal de la intususcepción. Normalmente, el fluido peritoneal es normal en el caso de la indigestión vagal salvo en los casos en que la reticuloperitonitis crónica es la causa subyacente. Con la intususcepción o el síndrome de yeyuno hemorrágico, podéis esperar encontrar cifras elevadas de proteína total y quizá sangre en el fluido abdominal.

Evaluación en el Laboratorio. Se necesita una evaluación del perfil químico del suero para distinguir algunas de las causas potenciales de la distensión abdominal debido a la materia fecal. El cloruro sérico y la TCO2 (o HCO3) son útiles pare distinguir entre obstrucciones físicas o funcionales del tracto gastrointestinal o al píloro versus no píloro. El abomaso secreta HCl que, en su estado normal, se va al intestino delgado y se reabsorbe. Cuando el píloro está obstruido, o el flujo abomasal se ve inhibido o reducido a causa de una obstrucción del intestino delgado, la HCl queda secuestrado en el abomaso y refluye al rumen. Por lo tanto, el cloruro sérico disminuye y el HCO3 en suero aumenta (hipocloremia y alcalosis metabólica). Si falla el transporte abomasal, estos dos valores serán normales o casi normales. En el caso de una impactación abomasal, habrá una grave hipocloremia y alcalosis metabólica. En el caso de la obstrucción del tracto intestinal, habrá hipocloremia y alcalosis metabólica pero, típicamente, no es tan grave como en el caso de una impactación abomasal (y vólvulo abomasal). El CBC no cambia mucho generalmente en un caso de indigestión vagal, pero se puede ver una respuesta inflamatoria aguda en la intussuscepción y en el síndrome de yeyuno hemorrágico. Si la indigestión vagal es secundaria a un retículo-peritonitis traumático (y generalmente este es el caso excepto después de una corrección del vólvulo abomasal), entonces se pueden encontrar pruebas de una inflamación crónica en el CBC y puede haber proteínas en el suero. La anemia también puede presentarse en el caso de un síndrome de yeyuno hemorrágico.

Feto

El Contorno Abdominal. La distensión abdominal debido a múltiples fetos o a la hidropesia se caracteriza típicamente por una distensión bilateral especialmente en los cuadrantes ventrales. La hidroalantoide, que es la condición hidrópica más común, lleva a una distensión abdominal rápida y profunda en cuestión de unas pocas semanas. El hidramnios lleva a una distensión abdominal más lenta y menos severa.

Peloteo (Ballottement). En la hidroalantoide, la distensión por fluido es normalmente tan grave que el feto no puede pelotearse desde el flanco derecho; en la hidramnios, puedes pelotear al feto en algunos casos.

Sucusión. Es poco probable que se den sonidos de chapoteo porque no habrá aire en el útero.

Exploración Rectal. La exploración rectal puede ser bastante útil para distinguir entre estas dos condiciones. En la hidralantoide, el feto y las placentomas no se pueden palpar normalmente; mientras en el caso del hidramnios, si se pueden.

Exploración por Ecografía. Normalmente, esto no es necesario para el diagnóstico, pero si se podrá ver si hay excesivo fluido fetal en el útero.

La Abdominocentesis. Esto debe evitarse cuando se sospecha de un caso de hidropesia porque es posible que se perfore el útero.

Evaluación en el Laboratorio. Es poco probable que el análisis de la sangre ayude en el diagnóstico de estas condiciones.

ENGLISH VERSION ▾

Clinical diagnosis using physical examination, laboratory data, and complementary diagnostic techniques in cattle with distended abdomen

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Diplomate, ACVIM, ECBHM

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, Texas A&M University College Station, Texas, USA

INTRODUCTION

There are many different causes of distended abdomen in cattle. The diagnostic approach is simplified if we assign the patient to one of five categories that will substantially reduce the length of our list of differential diagnoses. In English, we can create an easy way to remember the categories of abdominal distention- the 5 F's of abdominal distention: Fluid, Flatus, Feces, Fetus and Fat. In Spanish, it will be 3 F's, an H and a G.

Certainly, the signalment and history are important in establishing and prioritizing the list of differential diagnoses for abdominal distention. However, for the purposes of this paper, we will focus only on the physical examination, ultrasonographic examination and laboratory evaluation and how these diagnostic techniques can help differentiate among the categories, as well as within the categories, to arrive at a specific diagnosis.

The following is a list of the important differential diagnoses under each category.

Fat

Fluid - free fluid in the abdominal cavity

- Ascites-secondary to congestive heart failure or hypoproteinemia.
- Peritonitis- secondary to abomasal ulcer, perforated uterus, perforated rectum, surgical contamination, wound, etc.
- Uroperitoneum- ruptured bladder or a leak in the urinary system.

Flatus- gas in the gastrointestinal tract

- Ruminal tympany (Free gas or frothy)
- Cecal dilatation
- Abomasal volvulus
- Ileus

Feces - solid or liquid material in the gastrointestinal tract

- carbohydrate engorgement/ruminal acidosis
- Vagal indigestion (Hoflund Syndrome) - omasal transport failure, abomasal impaction, and partial obstruction of the forestomachs.
- Small intestinal obstruction (intussusception, jejunal hemorrhagic syndrome torsion of the root of the mesentery)
- Cecal volvulus
- atresia coli, recti or ani

Fetus

- multiple fetuses
- hydramnios, hydrallantois

Fluid

For the purposes of our discussion, "fluid" is defined as any fluid in the abdomen that is outside of the gastrointestinal tract.

Abdominal contour. Free abdominal fluid usually results in bilaterally symmetrical distention of the abdomen. When there is a substantial amount of free fluid in the abdomen, there is often a decreased appetite, so the size of the rumen is decreased. This small rumen will usually have some gas in it, and the rumen will float, causing distention in the left paralumbar fossa. The free abdominal fluid and the floating rumen can mimic the shape of the abdomen with vagal indigestion. Other clinical signs and imaging can the used to differentiate between a fluid-filled abdomen and a distended rumen and reticulum.

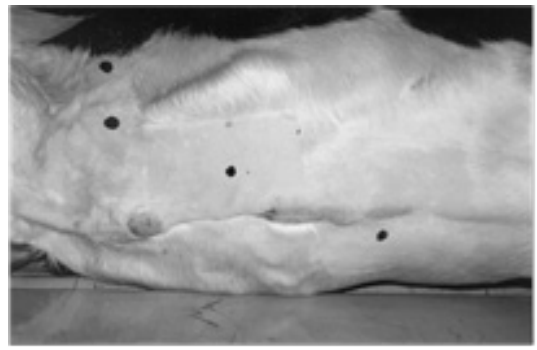
Ping. There are usually no pings associated with a fluid-filled abdomen.

Ballottement. Ballottement of a fluid-filled abdomen produces the feel of a large sack of fluid, usually with no firm structures encountered. In animals small enough to ballot one side of the abdomen while palpating the other side, a fluid wave can frequently be elicited by tapping the abdomen firmly with the fist and placing the other hand flat on the opposite side of the abdomen. In larger animals, this can be accomplished with two people, one on each side

Succussion - One might think that splashing sounds could be easily solicited in an abdomen distended with fluid. However, in order to produce the splashing sounds, there must be gas in the fluid-filled structure. Many times a fluid-filled abdomen will not produce sound because there is no gas/fluid interaction.

Rectal Examination- One of the most remarkable features on rectal palpation of an abdomen filled with fluid is the absence of structures. When one sees a distended abdomen, one frequently expects to find structures like the rumen that are the sources of the distention. In the case of a fluid-filled abdomen, the structures are either not palpable or they are small. In patients with a small floating rumen, the rumen can be palpated as a gas-filled structure in the left dorsal quadrant of the abdomen, but the ventral sack cannot be palpated. This differentiates a fluid-filled abdomen from an abdomen distended by a fluid-filled rumen.

Ultrasonographic Examination- Ultrasonography is extremely useful in determining that fluid is the cause of a distended abdomen. A basic rectal ultrasound probe used for pregnancy diagnosis is quite adequate to simply determine that there is fluid in the abdomen. In addition to determining the presence of fluid, one can also get a good idea of the character of the fluid. If the fluid is hypoechoic (black), that means that there is low cellularity. Ascites from heart failure and uroperitoneum will frequently be accompanied by the accumulation of hypoechoic fluid. In uroperitoneum, sometimes fibrin is also seen floating in the fluid. Echogenic fluid usually indicates cellularity and fibrin, which in turn indicates peritonitis.



Abdominocentesis. If ultrasonography has already been performed, it is easy to select a site for abdominocentesis. Without ultrasonographic guidance, three sites are recommended. The right ventral flank in front of udder just medial or lateral to the caudal superficial epigastric vein (milk vein) is the site most likely to yield some fluid. This is the preferred site for routine abdominocentesis. If peritonitis secondary to abomasal ulcer is suspected, the site between the xiphoid and umbilicus to the right of midline is the best choice. When reticulo-peritonitis is suspected, it is best to insert the needle just behind the xiphoid slightly to the left of midline. The reason for recommending several sites is that cattle wall off abdominal lesions remarkably well. Fluid from different regions of the abdomen may be quite different in character. Always attempt collection near the suspected lesion. I prefer to use an 18 gauge 4cm (or longer) needle, but a teat cannula inserted through a small stab incision is also acceptable. A small blood tube with EDTA should be used to collect the sample. Be patient. Sometimes it takes a minute or more for the fluid to flow because the tip of the needle may be temporarily blocked by omentum or intestine. If you have not already identified fluid using ultrasonography, expect only about half of attempts to yield fluid. A few drops to a few milliliters is normal. If you can collect more than 2 mL of fluid, that should be considered abnormal. The simple fact that abdominal fluid was easy to collect means that something is abnormal in the abdomen. In addition, information can be obtained by simply looking at the fluid. Ascites and urine tend to be relatively clear and may be slightly yellow in color. Septic peritonitis can range from yellow to reddish-brown in color. Frequently small pieces of fibrin can be seen, and the fluid may smell putrid. This is a poor prognostic sign. The results of recent studies have actually made the interpretation of analysis of abdominal fluid easier. Recent studies show that the WBC and total protein can be misleading. The most reliable indication of sepsis is a neutrophil proportion greater than 50% and an eosinophil proportion less than 10% of the total white cells in the fluid. If there has been perforation of the abomasum, one may see plant material grossly or microscopically. To diagnose uroperitoneum, always analyze for creatinine and not urea, because urea moves in and out of the abdomen very quickly. In uroperitoneum, the abdominal fluid creatinine should be 2 times as much as the serum creatinine.

Laboratory Evaluation. A complete blood count and a serum chemistry panel is unlikely to make a specific diagnosis of one of the diseases in this category. There are usually more direct ways to make a definitive diagnosis. However, if one is still considering other categories of abdominal distension, laboratory data can be useful in refining the differential diagnosis list. It also may be useful in prognosis and therapy. In cases of acute peritonitis, the WBC count and differential may help define the severity of the disease. If the WBC count is low and there is a degenerative left shift in the neutrophils, that suggests severe sepsis and lessens the prognosis for recovery. Later in the disease, a neutrophilia may be present along with an elevated fibrinogen. The fibrinogen in peritonitis is interesting. With localized peritonitis, it is my observation that fibrinogen is frequently elevated. In severe generalized peritonitis, sometimes the fibrinogen is actually below the reference interval. I think that may be because so much fibrin is being deposited in the abdomen in response to the disease. In chronic peritonitis, the serum globulin may be elevated and the A:G ratio decreased, evidence of chronic inflammatory disease. In addition to fibrinogen/fibrin being deposited into the abdominal cavity, albumin, and to some extent globulin, is deposited. In many cases of severe septic peritonitis, the ultimate cause of death is hypoalbuminemia/hypoproteinemia rather than septic shock. Even if the sepsis can be controlled, the leakage of protein into the abdomen continues, and if the abdominal fluid is being drained, protein loss exceeds protein production. The progressive decrease in serum albumin concentration is a poor prognostic sign for cattle with peritonitis. In uroperitoneum, as expected, the serum creatinine and urea are usually elevated unless the leak in the urinary tract is very small. In addition, the plasma electrolytes may be severely affected. The plasma sodium and chloride may be very low, but unlike most other species, cattle usually do not develop a hyperkalemia. Urine is very low in sodium and chloride, but high in potassium. Typically, the electrolytes move across the peritoneal lining along their concentration gradient. It makes sense that sodium and chloride would move into the abdominal fluid and out of the plasma, and potassium would move out of the abdominal fluid into the plasma. While that occurs, cattle are able to excrete large quantities of potassium in their saliva, which is then not reabsorbed due to aldosterone release.

Flatus

Flatus, in the context of this paper, is gas anywhere in the gastrointestinal tract.

Abdominal Contour. The abdominal contour of cattle when flatus is the cause for distention, of course, is determined by which viscous is distended. Because the rumen is the largest and most frequently distended viscous, we will focus on ruminal tympany or bloat. The typical abdominal contour associated with ruminal tympany is distention primarily on the left side and primarily in the dorsal left quadrant. When distention is severe, there is also some distention of the right side of the abdomen. In frothy bloat, the distention is slightly more symmetrical and slightly less pronounced in the upper left quadrant. Frothy bloat is caused by increased surface tension of the fluid in the rumen, which results in trapping of tiny gas bubbles and the production of foam. The foam inhibits eructation and causes ruminal tympany. Free gas bloat is caused by a failure of eructation due to either ruminal atony, obstruction of the esophagus, adhesions that prevent the cardia from being elevated above the fluid line in the rumen, or by position, such as lateral recumbency.

Ballottement. If the ruminal tympany is accompanied by ruminal distention with fluid, as in carbohydrate engorgement, ballottement of the rumen may feel similar to that with fluid in the abdomen. The left paralumbar fossa will obviously be filled with air and will be soft, or will be tense if the intraruminal pressure is elevated. Slapping on the left paralumbar fossa will produce a hollow sound. It is unusual for gaseous distention of an abdominal viscous other than the rumen to cause substantial abdominal distention. Occasionally a very large abomasal volvulus may cause distention on the right side. Also, a very distended cecum may be visible in the right paralumbar fossa.

Ping. A distended rumen rarely pings. Instead, a lower pitched tone will be elicited. If the distention is on the right side and is being produced by an abomasal volvulus or cecal distention, a classical ping may be solicited with simultaneous auscultation and percussion.

Succussion. Depending on the consistency of the non-gaseous component of the rumen, sloshing may be heard during ballottement and succussion. This may be elicited on the left or the right side when the rumen is sufficiently distended.

Rectal Examination -in ruminal tympany, the rumen fills most of the abdomen. The gas cap of the rumen is easily palpated per rectum. Abomasal volvulus can be palpated in many dairy cows, but some modern Holsteins are so large that it is difficult to reach an abomasal volvulus. Cecal volvulus should always be palpable.

Ultrasonographic Examination. Ultrasonographic evaluation of flatus is usually not necessary. In addition, ultrasonography of a gas-filled viscous simply produces reverberation artifact.

Abdominocentesis is rarely indicated in cattle with distention due to flatus. In fact it is usually contraindicated because the gas distends the viscous, usually the rumen, and increases the possibility of perforation of the viscous and possible laceration.

Laboratory Evaluation. Cattle with free gas are frothy bloat seldom have substantial changes in clinical laboratory parameters. Cattle with esophageal obstruction and secondary bloat may also have acidosis because loss of bicarbonate-rich saliva results in metabolic acidosis. If the underlying cause of the ruminal tympany is chronic inflammatory disease in the thorax, the serum proteins may indicate chronic inflammation. The changes associated with abomasal and intestinal obstruction will be discussed later.

Feces

In this context, we are considering any solid or liquid contents of the gastrointestinal tract from the rumen to the rectum to be feces. Some veterinarians will substitute another word that begins with “F” in English, “feed,” for this “F”.

Abdominal Contour. The typical abdominal contour for ruminal distention with solid or liquid contents is ventral distention on the right, and ventral and dorsal distention on the left. Many times, there is also flatus contributing to distention in the left paralumbar fossa. This is the so-called “papple” shaped abdomen, a word that is formed by combining the English words “pear and apple.” The right side of the animal is shaped like a pear and the left side is shaped like an apple. The shape is caused by distention of the rumen, even on the right side. It is tempting to think that the right ventral distention is due to an enlargement of the abomasum, but this is usually not in the case. Even when there is abomasal impaction, the rumen becomes very full because of the blockage of outflow from the rumen. The same is true when an intussusception occurs. While the small intestines become distended with fluid and some

gas, the volume of the intestine is relatively small. However, the rumen ceases to empty and therefore ruminal distention occur secondary to an intussusception. In atresia coli, recti and ani, the entire gastrointestinal tract becomes distended, so the contour of the animal is more symmetrical than in ruminal distention alone.

Ballottement. The findings upon ballottement depend on the cause of the distention. If the distention is something like carbohydrate engorgement, then the ruminal contents are typically relatively liquid, so no solid viscous is felt. Sometimes in vagal indigestion, the rumen contents are dry and firm, and in those cases, the ventral sac the rumen can be ballotted on the right side. While it is possible to ballot the abomasum, usually an impacted abomasum is not palpable from the exterior of the animal.

Succussion. When there is fluid and gas in the rumen, splashing sounds can be heard on succussion.

Rectal Examination. When the rumen is distended, it is palpable throughout the abdomen. Pay particularly particular attention to the ventral sack of the rumen. In vagal indigestion and intussusception of several days' duration, this part of the rumen is typically markedly distended and easy to palpate. A distended abomasum is nearly impossible to palpate per rectum, therefore, it is not possible to differentiate omasal transport failure from abomasal impaction based on a physical examination. Of course, partial obstruction of the intestine in late gestation is obviously accompanied by a near-term fetus in the uterus. Intussusception is palpable per rectum, but in my experience, fluid-filled small intestinal loops are usually found. The intussusception itself is not typically palpated. If you are lucky, you will feel a long cylindrical structure that is firm on palpation; but you must be lucky. You may discover melena or hematochezia on rectal examination in intussusception. Sometimes the presenting signs of intussusception and jejunal hemorrhagic syndrome are very similar. The amount of hemorrhage in the latter disease is usually greater. Remember that the rumen will be quite enlarged in a chronic intussusception. This is seen more in beef cattle and dairy cattle because the disease is usually diagnosed earlier and dairy cattle. If the rumen is very distended, and you still suspect intussusception, consider passing a large bore stomach to drain the rumen, and then palpate carefully for the intestinal loops.

Ultrasonographic Examination. Ultrasonography can be useful to identify the distended abomasum in abomasal impaction and distended gut loops in intussusception or hemorrhagic jejunal syndrome. Again, if you are lucky, you might be able to visualize the intussusception itself, which looks like a target with concentric rings in the intestine. When there is small intestinal blockage, the gut will be filled with fluid and will have little or no motility.

Abdominocentesis. While there is some risk of perforating the intussusception when the intestinal tract is filled with fluid and solid material, abdominocentesis may be helpful in differentiating vagal indigestion from intussusception. Usually peritoneal fluid is normal with vagal indigestion unless chronic reticuloperitonitis is the underlying cause. With intussusception or hemorrhagic jejunal syndrome, expect to find an elevated total protein and perhaps blood in the abdominal fluid.

Laboratory Evaluation. Evaluation of the serum chemistry profile is necessary for differentiation of some of the potential causes of abdominal distention due to feces. Serum chloride and TCO_2 (or HCO_3) are useful in differentiating physical or functional obstruction of the gastrointestinal tract orad to the pylorus versus abroad to the pylorus. The abomasum secretes HCl, which in the normal state, moves to the small intestine and is reabsorbed. When the pylorus is obstructed, or abomasal outflow is inhibited or reduced because of a small intestinal obstruction, the HCl is sequestered in the abomasum and refluxed into the rumen. Therefore, the serum chloride is decreased and the serum HCO_3 is increased (hypochloremia and metabolic alkalosis). In abomasal transport failure, these two values are normal or very nearly normal. In abomasal impaction, there is severe hypochloremia and metabolic alkalosis. In obstruction of the intestinal tract, there is hypochloremia and metabolic alkalosis, but typically, it is not as severe as it is in abomasal impaction (and abomasal volvulus.) The CBC is usually not markedly changed in vagal indigestion, but an acute inflammatory response may be seen in intussusception and jejunal hemorrhagic syndrome. If vagal indigestion is secondary to traumatic reticulo- peritonitis, (and it usually is except following correction of abomasal volvulus) then evidence of chronic inflammation in the CBC and serum proteins may be present. Anemia may also be present in jejunal hemorrhagic syndrome.

Fetus

Abdominal Contour. Abdominal distention due to multiple fetuses or hydrops is typically characterized by bilateral distention especially in the ventral quadrants. Hydrallantois, which is the most common dropsical condition, results in rapid and profound abdominal distention over a few weeks. Hydramnios, results in a slower and less severe abdominal distention.

Ballottement. In hydrallantois, fluid distention is usually so severe that the fetus cannot be balloted from the right flank; in hydramnios, one may be able to blot the fetus in some cases.

Succussion. Splashing sounds are unlikely because there will not be air in the uterus.

Rectal Examination. Rectal examination is quite useful in helping to differentiate between these two conditions. In hydrallantois, the fetus and placentomes are usually not palpable, whereas in hydramnios, they are.

Ultrasonographic Examination. This is not typically necessary to make a diagnosis, but excessive fetal fluid will be seen in the uterus.

Abdominocentesis. This should be avoided when hydrops is suspected because puncture of the uterus is likely.

Laboratory Evaluation. Evaluation of blood values is unlikely to aid in the diagnosis of these conditions.

¿CUÁLES SON LAS CONSECUENCIAS DE LAS LESIONES DE PEZUÑA EN LA VIDA DE UNA VACA?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

RESUMEN

La lesiones ulcerosas de pezuña (planta ulcerada, planta hemorrágica y enfermedad de la línea blanca) implican la alteración del crecimiento de la pezuña y son responsables de una gran proporción de cojeras en vacas lecheras. La alteración de la pezuña ocurre cuando la fuerza transferida a través del pie excede lo que puede soportar. Este principio pone en relieve dos componentes vitales que conducen a la alteración y formación de la lesión: [A] la anatomía del pie ha sido insuficiente para hacer frente a las fuerzas aplicadas, y [B] las fuerzas aplicadas a los pies han sido demasiado grandes para la anatomía. Este documento explora como las estructuras anatómicas de la pezuña permiten que funcione de manera óptima, como cambia su anatomía con el estado fisiológico y como incrementa el riesgo de daño, y como cambia la anatomía de la pezuña de forma irreparable con las sucesivas lesiones, causando la degeneración de las pezuñas y la perpetuación posterior de la cojera. La comprensión de estos principios nos permite apreciar cuando el pie está en mayor riesgo de alteración de la pezuña, para identificar los mejores métodos para prevenir la cojera y determinar las mejores formas de tratamiento.

Introducción a la anatomía del pie

La úlcera en la planta fue descrita por primera vez en el año 1920 (Rusterholz, 1920), la hemorragia en la planta parece ser el mismo proceso de la enfermedad en una etapa temprana y la enfermedad de la línea blanca es considerada como parte de la misma enfermedad compleja; las lesiones son probablemente el resultado de un trauma en los tejidos de la pezuña, y colectivamente se pueden denominar lesiones de disrupción de pezuña . Muchos estudios han identificado factores de riesgo para lesiones de pezuña y una buena manera de comprender cómo estos factores de riesgo influyen en la cojera es apreciando la anatomía del pie y cómo se ha adaptado a las fuerzas durante la locomoción.

El peso entero de la vaca se transfiere a través de los huesos de la pierna a la falange distal. La falange distal se coloca dentro de la cápsula de la pezuña y está suspendida de la pared de la pezuña por los accesorios laminares y se apoya en la suela por el cojín digital (Lischer *et al.*, 2002). El cojín digital está apoyado alrededor de la tuberosidad flexora- la región de la falange distal en la que está insertada el tendón flexor digital profundo, que golpea el suelo primero en la pisada - y se cree que absorbe y disipa las fuerzas concesivas transferidas a través de la falange distal durante la pisada y la carga. La suela de la pezuña crece de una capa de células debajo del cojín digital llamado epitelio digital, y el trauma y la hemorragia dentro de este tejido impide su crecimiento y funcionamiento, que eventualmente lleva al cese del crecimiento y la ulceración (Nuss, 2014). Se cree que el cojín digital juega un papel en la prevención de las lesiones de pezuña porque reducen el shock, disipan las fuerzas lateralmente y reducen las fuerzas máximas del epitelio germinal en la suela (Räber *et al.*, 2004; Bicalho *et al.*, 2009). Dado que todos los aspectos del pie están diseñados para la absorción del shock y la disipación de la fuerza, la insuficiencia de cualquier estructura anatómica dentro del pie - por ejemplo, un delgado cojín digital, la laxitud del aparato suspensivo e incluso la forma inapropiada del pie, por ejemplo, con sobrecrecimiento del dedo - podría causar que fuerzas mayores sean transferidas al epitelio germinal de la planta, donde se desarrollan las típicas úlceras de suela.

EL cojín digital

El trabajo epidemiológico ha demostrado que la pérdida de la condición corporal precede los casos de cojera, independientemente de si la cojera fue detectada visualmente (Lim *et al.*, 2015; Randall *et al.*, 2015) o había trastornos de movilidad o incidencia del tratamiento en las lesiones (Green *et al.*, 2014). Se ha descubierto que la puntuación de la condición corporal (BCS) está positivamente asociada al grosor del cojín digital (Bicalho *et al.*, 2009), una asociación que podría ser biológicamente plausible ya que el cojín digital tiene tejido adiposo (Räber *et al.*, 2004, 2006); los lípidos podrían ser depositados y movilizados del cojín digital durante periodos de balance energético positivo y negativo. Parece que al tener un cojín digital delgado predispone a la consiguiente cojera de las lesiones de pezuña (Machado *et al.*, 2011; Toholj *et al.*, 2013), y los estudios han mostrado también un componente hereditario en el grosor del cojín digital (Oikonomou *et al.*, 2014), y que los sistemas de cría pueden influir en esto (Gard *et al.*, 2015).

La investigación explora como cambia el cojín digital de forma longitudinal, encontrando que la correlación entre el grosor del espesor del cojín digital y la medida de la condición del cuerpo (BCS y grosor de la grasa de la espalda) era pequeña pero significativa, y que era más delgada inmediatamente después de parir, antes de que las vacas perdieran mucha condición corporal (Newsome *et al.*, 2017a, 2017b). Esto podría haber sido causado por las hormonas peri-parturientas como la relaxina, que se piensa causan una relajación del aparato suspensivo del pie y provoca que la falange distal se apoye en la capsula de la pezuña (Tarlton *et al.*, 2002; Knott *et al.*, 2007). El trabajo replicó resultados de estudios previos que mostraban que tener un cojín digital delgado predisponía a la vaca a lesiones de pezuña o cojera. Además, el cojín digital de las pezuñas con una úlcera de pezuña era notablemente más gruesa y esto fue evidente antes de que la única úlcera fuera visible en la superficie del pie.

Es posible que cualquier factor que influya en el espesor del cojín digital o la posición del pedal del hueso dentro del pie- tales como la genética, la crianza, la condición del cuero o el parto- tenga el potencial de contribuir a la alteración de la pezuña. En la medida que estos factores pueden ser manipulados utilizando intervenciones , y por lo tanto sirviendo como puntos de control a la cojera, no está claro aún, pero la comprensión de los cambios de anatomía en torno a la lesión podría ayudarnos a afrontar las medidas preventivas más apropiadas para la cojera durante los periodos claves de riesgo. Además, los hallazgos de que el cojín digital era más grueso cuando la lesión estaba presente apuntan hacia la inflamación y el trauma en la planta, cuya importancia será discutida más adelante.

Cojera Crónica

Además del problema del pie que lleva a la cojera, un gran número de estudios han mostrado que hay un componente degenerativo en la cojera: la cojera incrementa el riesgo de futuras cojeras (Hirst *et al.*, 2002; Reader *et al.*, 2011; Randall *et al.*, 2015), el retraso en el tratamiento es menos eficaz (Groenevelt *et al.*, 2014; Thomas *et al.*, 2015, 2016) y el retraso en la detección incrementa el riego de una cojera más severa (Bell *et al.*, 2009). De hecho, en un estudio de 1,800 vacas en dos rebaños en un periodo de más de ocho años, se estimó que entre el 79 al 83% de los casos de cojera podrían ser explicados por sucesos de cojera previos (Randall *et al.*, 2018).

Los estudios anatómicos han intentado explicar esta situación Se observan nuevos crecimientos de huesos en la tuberosidad del flexor de la falange distal (Tsuka *et al.*, 2012) que parece aumentar con la edad y con cojeras anteriores, aunque la cojera anterior denote «puntuaciones de alta movilidad prolongadas» o «tratamientos de una lesión de pezuña» durante su vida (Newsome *et al.*, 2016). Parece plausible que la alteración de la pezuña combinada con las conclusiones anteriores de inflamación en el cojín digital (Newsome *et al.*, 2017a), y el posible agotamiento del cojín digital con cojera en la pezuña (Lischer *et al.*, 2002; Räber *et al.*, 2006),está asociado con la importante degeneración de la anatomía del pie que es responsable de la absorción y dispersión del shock. Los cambios son permanentes e irreparables, y muchos llevan a círculos viciosos con mayor daño en los tejidos, degeneración y cojera.

La comprensión de este daño dentro del pie que se produce con la prolongada parálisis pone en relieve la importancia crítica de la detección temprana y el tratamiento eficaz de la cojera. La identificación de las vacas cojas y la realización de un arreglo terapéutico del pie ha demostrado que mejora la resolución de la cojera (Groenevelt *et al.*, 2014). Además, el mejor tratamiento para las lesiones de pezuña parece que son la combinación de un arreglo terapéutico de la pezuña, aplicar una bloque a la pezuña sana y un lote de fármaco anti inflamatorio no esteroideo cuando las vacas son tratadas precozmente (Thomas *et al.*, 2015), pero las tasas de cura eran inferiores cuando se retrasaba el tratamiento (Thomas *et al.*, 2016). La detección de las lesiones tempranas y tratarlas adecuadamente- con una combinación de NSAIDs y el alivio de la presión ofrecido por el bloque-proporciona la mejor solución conocida actualmente para resolver los nuevos casos de cojera. Como la cojera crea un círculo vicioso en la degeneración del pie, la detección temprana y el tratamiento de la cojera son un componente importante de cualquier programa de control de la cojera.

CONCLUSIÓN

Tenemos una buena comprensión de por qué suceden las lesiones de pezuña, como detectarlas y tratar la cojera y la importancia de hacerlo. Tenemos menos evidencia disponible con respecto a que intervenciones en la granja serán mejores para prevenir la cojera en primer lugar y esto probablemente variará de una granja a otra. Sin embargo la comprensión de los desafíos de la anatomía del pie pueden ayudarnos a comprender por qué se produce la cojera y que intervenciones pueden ser beneficiosas. Por ejemplo, las fuerzas máximas en el pie pueden ser demasiado grandes en la parte de sistema de gestión de la granja, o pueden ser demasiado prolongadas debido a tiempos de estar de pie demasiado prolongados, o la presión social puede ser demasiado alta cuando el pie es más propenso a sufrir daños inmediatamente después del parto. Es crucial una visión integral de los retos que enfrenta el pie a la luz del sistema de la vaca, junto con la comprensión de la anatomía del pie y cómo cambia, es un valioso punto de partida para abordar esta difícil y costosa enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Bell, N. J., Bell, M. J., Knowles, T. G., Whay, H. R., Main, D. J. and Webster, A. J. F. (2009) 'The development, implementation and testing of a lameness control programme based on HACCP principles and designed for heifers on dairy farms', Vet. J., 180(2), pp. 178–188. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.05.020.
- Bicalho, R. C., Machado, V. S. and Caixeta, L. S. (2009) 'Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion', J. Dairy Sci., 92(7), pp. 3175–3184. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1827.
- Gard, J. A., Taylor, D. R., Wilhite, D. R., Rodning, S. P., Schnuelle, M. L., Sanders, R. K., Beyers, R. J., Edmondson, M. A., DeGraves, F. J. and van Santen, E. (2015) 'Effect of exercise and environmental terrain on development of the digital cushion and bony structures of the bovine foot', Am. J. Vet. Res. American Veterinary Medical Association, 76(3), pp. 246–252. doi: http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.76.3.246.
- Green, L. E., Huxley, J. N., Banks, C. and Green, M. J. (2014) 'Temporal associations between low body condition, lameness and milk yield in a UK dairy herd', Prev. Vet. Med., 113(1), pp. 63–71. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.009.
- Groenevelt, M., Main, D. C. J., Tisdall, D., Knowles, T. G. and Bell, N. J. (2014) 'Measuring the response to therapeutic foot trimming in dairy cows with fortnightly lameness scoring', Vet. J., 201(3), pp. 283–288. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.017.
- Hirst, W. M., Murray, R. D., Ward, W. R. and French, N. P. (2002) 'A mixed-effects time-to-event analysis of the relationship between first-lactation lameness and subsequent lameness in dairy cows in the UK', Prev. Vet. Med., 54(3), pp. 191–201.
- Knott, L., Tarlton, J. F., Craft, H. and Webster, A. J. F. (2007) 'Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers', Vet. J., 174(2), pp. 277–287. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.09.007.
- Lim, P. Y., Huxley, J. N., Willshire, J. A., Green, M. J., Othman, A. R. and Kaler, J. (2015) 'Unravelling the temporal association between lameness and body condition score in dairy cattle using a multistate modelling approach', Prev Vet Med. 2015/01/13, 118(4), pp. 370–377. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.12.015.
- Lischer, C. J., Ossent, P., Räber, M. and Geyer, H. (2002) 'Suspensory structures and supporting tissues of the third phalanx of cows and their relevance to the development of typical sole ulcers (Rusterholz ulcers)', Vet. Rec., 151(23), pp. 694–698.
- Machado, V. S., Caixeta, L. S. and Bicalho, R. C. (2011) 'Use of data collected at cessation of lactation to predict incidence of sole ulcers and white line disease during the subsequent lactation in dairy cows', Am. J. Vet. Res.,

72(10), pp. 1338–1343. doi: http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.72.10.1338.

- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C. S., Sturrock, C. J., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2016) 'Linking Bone Development on the caudal aspect of the Distal Phalanx with Lameness during Life', J. Dairy Sci., 99(6), pp. 4512–4525. doi: 10.3168/jds.2015-10202.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Mason, C. S., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2017a) 'A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness, Part 1: Does body condition loss really lead to thinning of the digital cushion?', J. Dairy Sci., In Press.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Mason, C. S., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2017b) 'A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness, Part 2: Does thinning of the digital cushion lead to lameness and lesions?', J. Dairy Sci., In Press.
- Nuss, K. (2014) 'The role of biomechanical factors in the development of sole ulcer in dairy cattle.', Cattle Lameness Conf. Edited by B. Pocknee. Worcester: The Dairy Group, pp. 1–11.
- Oikonomou, G., Banos, G., Machado, V., Caixeta, L. and Bicalho, R. C. (2014) 'Short communication: Genetic characterization of digital cushion thickness', J. Dairy Sci. American Dairy Science Association, 97(1), pp. 532–536. Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213007819?showall=true.
- Räber, M., Lischer, C. J., Geyer, H. and Ossent, P. (2004) 'The bovine digital cushion—a descriptive anatomical study', Vet. J., 167(3), pp. 258–264. Available at: http://gateway.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=15080874.
- Räber, M., Scheeder, M. R. L., Ossent, P., Lischer, C. J. and Geyer, H. (2006) 'The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location—a preliminary report', Vet. J., 172(1), pp. 173–177. Available at: http://gateway.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=16772143.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', J. Dairy Sci., 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Randall, L. V, Green, M. J., Green, L. E., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C. and Huxley, J. N. (2018) 'The contribution of previous lameness events and body condition score to the occurrence of lameness in dairy herds: A study of 2 herds.', J. Dairy Sci. United States, 101(2), pp. 1311–1324. doi: 10.3168/jds.2017-13439.
- Reader, J. D., Green, M. J., Kaler, J., Mason, S. A. and Green, L. E. (2011) 'Effect of mobility score on milk yield and activity in dairy cattle', J. Dairy Sci., 94(10), pp. 5045–5052. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4415.
- Rusterholz, A. (1920) 'Das spezifisch-traumatische Klauensohlengeschwür des Rindes (Eng: The specific traumatic sole ulcer of claws in cattle)', Schweiz. Arch. Tierheilkd., 62, pp. 421–466.
- Tarlton, J. F., Holah, D. E., Evans, K. M., Jones, S., Pearson, G. R. and Webster, A. J. F. (2002) 'Biomechanical and histopathological changes in the support structures of bovine hooves around the time of first calving', Vet. J., 163(2), pp. 196–204. doi: 10.1053/tvjl.2001.0651.
- Thomas, H. J., Miguel-Pacheco, G. G., Bollard, N. J., Archer, S. C., Bell, N. J., Mason, C., Maxwell, O. J. R., Remnant, J. G., Sleeman, P., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2015) 'Evaluation of treatments for claw horn lesions in dairy cows in a randomized controlled trial', J. Dairy Sci., 98(7), pp. 4477–4486. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8982.
- Thomas, H. J., Remnant, J. G., Bollard, N. J., Burrows, A., Whay, H. R., Bell, N. J., Mason, C. and Huxley, J. N. (2016) 'Recovery of chronically lame dairy cows following treatment for claw horn lesions: a randomised controlled trial', Vet. Rec., 178, p. 116. doi: 10.1136/vr.103394.
- Toholj, B., Cincović, M., Stevančević, M., Spasojevic, J., Ivetić, V. and Potkonjak, A. (2013) 'Evaluation of ultrasonography for measuring solar soft tissue thickness as a predictor of sole ulcer formation in Holstein-Friesian dairy cows', Vet. J., 199(2), pp. 290–294. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.11.005.
- Tsuka, T., Ooshita, K., Sugiyama, A., Osaki, T., Okamoto, Y., Minami, S. and Imagawa, T. (2012) 'Quantitative evaluation of bone development of the distal phalanx of the cow hind limb using computed tomography', J. Dairy Sci., 95(1), pp. 127–138. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4316.

ENGLISH VERSION

What are the consequences of hoof injuries in the life of a cow?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

SUMMARY

The claw horn lesions (sole ulcer, sole haemorrhage and white line disease) involve disruption to claw horn growth and are responsible for a large proportion of lameness in dairy cattle. Claw horn disruption occurs as the forces being transferred through the foot exceed what it can withstand. This principle highlights two vital components that lead to claw horn disruption and lesion formation: [A] the anatomy of the foot has been insufficient to cope with the forces applied to it, and [B] the forces applied to the foot have been too great for the anatomy. This paper explores how key anatomical structures of the foot enable it to function optimally, how the foot anatomy changes with physiological state and how this increases the risk of insult to it, and how the anatomy of the foot changes irreparably with continued lesion occurrence, causing degeneration of the foot and perpetuating further lameness. Understanding these principles enables us to appreciate when the foot is at greatest risk from claw horn disruption, to identify the best methods of preventing lameness from claw horn disruption and to determine the best forms of treatment.

INTRODUCTION AND FOOT ANATOMY

Sole ulcer was first reported in the year 1920 (Rusterholz, 1920), sole haemorrhage appears to be an early stage of the same disease process and increasingly white line disease is considered to be part of the same disease complex: the lesions are likely a result of trauma to the horn-producing tissues, and

collectively can be termed the lesions of "claw horn disruption". Many studies have identified risk factors for claw horn lesions and a good way of understanding how these risk factors influence lameness is by appreciating the anatomy of the foot and how it is adapted to forces during locomotion.

The entire weight of the cow is transferred through the bones of the leg and into the distal phalanx. The distal phalanx sits within the hoof capsule and is suspended from the hoof wall by laminar attachments and is supported above the sole by the digital cushion (Lischer *et al.*, 2002). The digital cushion sits around the flexor tuberosity – the region of the distal phalanx onto which the deep digital flexor tendon inserts, which strikes the ground first during foot-strike – and is thought to absorb and dissipate concussive forces transferred through the distal phalanx during foot-strike and loading. The sole horn grows from a layer of cells beneath the digital cushion called the germinal epithelium, and trauma to and haemorrhage within this tissue impedes its growth and function, which eventually leads to cessation of growth and ulceration (Nuss, 2014). The digital cushion is thought to play a role in claw horn lesion prevention by reducing shock, dissipating forces laterally and reducing peak forces on the germinal epithelium of the sole (Räber *et al.*, 2004; Bicalho *et al.*, 2009). Since all aspects of the foot are designed for shock absorption and force dissipation, insufficiency of any anatomical structure within the foot – for example a thin digital cushion, laxity of the suspensory apparatus or even inappropriate foot shape e.g. with toe overgrowth – could cause greater forces being transferred onto the germinal epithelium of the sole, where the typical sole ulcer develops.

THE DIGITAL CUSHION

Epidemiological work has demonstrated that body condition loss preceded lameness events, whether lameness was defined by visual detection of impaired mobility (Lim *et al.*, 2015; Randall *et al.*, 2015) or treatment incidence of lesions (Green *et al.*, 2014). Body condition score (BCS) has been found to be positively associated with digital cushion thickness (Bicalho *et al.*, 2009), an association that could be biologically plausible because the digital cushion contains adipose tissue (Räber *et al.*, 2004, 2006); lipid could be deposited to and mobilized from the digital cushion during periods of positive and negative energy balance. Having a thin digital cushion appears to predispose subsequent lameness from claw horn lesions (Machado *et al.*, 2011; Toholj *et al.*, 2013), and studies have also reported a heritable component to digital cushion thickness (Oikonomou *et al.*, 2014) and that rearing systems can influence it (Gard *et al.*, 2015).

Research exploring how the digital cushion changed in a longitudinal manner found that the correlation between digital cushion thickness and measures of body condition (BCS and back fat thickness) was small but significant, yet it was thinnest immediately after calving, before cows had lost much body condition (Newsome *et al.*, 2017a, 2017b). This could have been an effect of peri-parturient hormones such as relaxin, which have been hypothesized to cause relaxation of the suspensory apparatus of the foot and cause the distal phalanx to sit lower in the hoof capsule (Tarlton *et al.*, 2002; Knott *et al.*, 2007). The work replicated results of previous studies showing that having a thin digital cushion then predisposed the cow or claw to lameness or lesions. Additionally, the digital cushion of claws with a sole ulcer was markedly thicker, and this was evident before the sole ulcer was visible on the surface of the foot.

It is possible that any factor influencing digital cushion thickness or the position of the pedal bone within the foot – such as genetics, rearing, body condition or calving – has the potential to contribute to claw horn disruption. The extent to which these factors can be manipulated using interventions, and therefore serve as control points for lameness, is not yet clear, but understanding changes to the anatomy around the onset of lesions could help us target the most appropriate prevention measures for lameness during the key risk periods. Additionally, the findings that the digital cushion was thicker when a lesion was present point towards inflammation and trauma within the sole, the importance of which will be discussed below.

CHRONIC LAMENESS

In addition to failure of the normal foot leading to lameness, a large number of studies have shown that there is a degenerative component to lameness: lameness increases the risk of future lameness (Hirst *et al.*, 2002; Reader *et al.*, 2011; Randall *et al.*, 2015), delayed treatment is less effective (Groenevelt *et al.*, 2014; Thomas *et al.*, 2015, 2016) and delayed detection increases the risk of more severe lameness (Bell *et al.*, 2009). In fact, one study of 1,800 cows in two herds over 8 years estimated that between 79 and 83% of lameness cases could be explained by previous lameness events (Randall *et al.*, 2018).

Anatomical studies have made attempts to explain this. New bone growths are observed on the flexor tuberosity of the distal phalanx (Tsuka *et al.*, 2012), which appear to increase with both age and previous lameness, whether lameness was denoted by either "prolonged high mobility scores" or "treatment for a claw horn lesion" during life (Newsome *et al.*, 2016). Combined with previous findings of inflammation in the region of the digital cushion with claw horn lesions (Newsome *et al.*, 2017a), and possible depletion of the digital cushion with claw horn lameness (Lischer *et al.*, 2002; Räber *et al.*, 2006), it seems plausible that claw horn disruption is associated with significant degeneration of the foot anatomy that is responsible for shock absorption and dissipation. The changes are likely permanent and irreparable, and may lead to a vicious cycle of further tissue damage, degeneration and lameness.

Understanding this damage within the foot that occurs with prolonged lameness highlights the critical importance of early detection and effective treatment of lameness. Identifying lame cows and performing a therapeutic foot trim has been shown to improve resolution of lameness (Groenevelt *et al.*, 2014). Further, the best treatment for claw horn lesions appears to be a combination of a therapeutic foot trim, a block being applied to the non-lame claw and a course of a non-steroidal anti-inflammatory drug when lame cows are treated early (Thomas *et al.*, 2015), yet cure rates were poorer when treatment was delayed (Thomas *et al.*, 2016). Detecting the lesions early and treating them appropriately – with a combination of NSAIDs and pressure relief provided by a block – gives the best currently known resolution for new lameness cases. Since lameness creates a self-perpetuating cycle of degeneration within the foot, early detection and treatment of lameness is an important component of any lameness control program.

CONCLUSION

We have a good understanding of why the claw horn lesions occur, how to detection and treat lameness and importance of doing so. Less evidence is available regarding which interventions on a farm will best prevent lameness in the first place, and this likely varies on a farm by farm basis. However, understanding the challenges to the anatomy of the foot can help us understand why lameness occurs and which interventions may be beneficial. For example, peak forces on

the foot might be too great in part of the farm management system, or forces may be too prolonged due to longer standing times, or social pressure might be too high when the foot is most prone to damage immediately after calving. A holistic view of the challenges that the foot faces in light of the system the cow is in, combined with understanding the key anatomy of the foot and how it changes, is a valuable starting point for addressing this painful and costly disease.

REFERENCES

- Bell, N. J., Bell, M. J., Knowles, T. G., Whay, H. R., Main, D. J. and Webster, A. J. F. (2009) 'The development, implementation and testing of a lameness control programme based on HACCP principles and designed for heifers on dairy farms', *Vet. J.*, 180(2), pp. 178–188. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.05.020.
- Bicalho, R. C., Machado, V. S. and Caixeta, L. S. (2009) 'Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion', *J. Dairy Sci.*, 92(7), pp. 3175–3184. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1827.
- Gard, J. A., Taylor, D. R., Wilhite, D. R., Rodning, S. P., Schnuelle, M. L., Sanders, R. K., Beyers, R. J., Edmondson, M. A., DeGraves, F. J. and van Santen, E. (2015) 'Effect of exercise and environmental terrain on development of the digital cushion and bony structures of the bovine foot', *Am. J. Vet. Res.* American Veterinary Medical Association, 76(3), pp. 246–252. doi: http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.76.3.246.
- Green, L. E., Huxley, J. N., Banks, C. and Green, M. J. (2014) 'Temporal associations between low body condition, lameness and milk yield in a UK dairy herd', *Prev. Vet. Med.*, 113(1), pp. 63–71. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.009.
- Groenevelt, M., Main, D. C. J., Tisdall, D., Knowles, T. G. and Bell, N. J. (2014) 'Measuring the response to therapeutic foot trimming in dairy cows with fortnightly lameness scoring', *Vet. J.*, 201(3), pp. 283–288. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.017.
- Hirst, W. M., Murray, R. D., Ward, W. R. and French, N. P. (2002) 'A mixed-effects time-to-event analysis of the relationship between first-lactation lameness and subsequent lameness in dairy cows in the UK', *Prev. Vet. Med.*, 54(3), pp. 191–201.
- Knott, L., Tarlton, J. F., Craft, H. and Webster, A. J. F. (2007) 'Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers', *Vet. J.*, 174(2), pp. 277–287. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.09.007.
- Lim, P. Y., Huxley, J. N., Willshire, J. A., Green, M. J., Othman, A. R. and Kaler, J. (2015) 'Unravelling the temporal association between lameness and body condition score in dairy cattle using a multistate modelling approach', *Prev Vet Med*. 2015/01/13, 118(4), pp. 370–377. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.12.015.
- Lischer, C. J., Ossent, P., Räber, M. and Geyer, H. (2002) 'Suspensory structures and supporting tissues of the third phalanx of cows and their relevance to the development of typical sole ulcers (Rusterholz ulcers)', *Vet. Rec.*, 151(23), pp. 694–698.
- Machado, V. S., Caixeta, L. S. and Bicalho, R. C. (2011) 'Use of data collected at cessation of lactation to predict incidence of sole ulcers and white line disease during the subsequent lactation in dairy cows', *Am. J. Vet. Res.*, 72(10), pp. 1338–1343. doi: http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.72.10.1338.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C. S., Sturrock, C. J., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2016) 'Linking Bone Development on the caudal aspect of the Distal Phalanx with Lameness during Life', *J. Dairy Sci.*, 99(6), pp. 4512–4525. doi: 10.3168/jds.2015-10202.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Mason, C. S., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2017a) 'A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness, Part 1: Does body condition loss really lead to thinning of the digital cushion?', *J. Dairy Sci.*, In Press.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Mason, C. S., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2017b) 'A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness, Part 2: Does thinning of the digital cushion lead to lameness and lesions?', *J. Dairy Sci.*, In Press.
- Nuss, K. (2014) 'The role of biomechanical factors in the development of sole ulcer in dairy cattle.', *Cattle Lameness Conf.* Edited by B. Pocknee. Worcester: The Dairy Group, pp. 1–11.
- Oikonomou, G., Banos, G., Machado, V., Caixeta, L. and Bicalho, R. C. (2014) 'Short communication: Genetic characterization of digital cushion thickness', *J. Dairy Sci.* American Dairy Science Association, 97(1), pp. 532–536. Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213007819?showall=true.
- Räber, M., Lischer, C. J., Geyer, H. and Ossent, P. (2004) 'The bovine digital cushion–a descriptive anatomical study', *Vet. J.*, 167(3), pp. 258–264. Available at: http://gateway.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=15080874.
- Räber, M., Scheeder, M. R. L., Ossent, P., Lischer, C. J. and Geyer, H. (2006) 'The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location–a preliminary report', *Vet. J.*, 172(1), pp. 173–177. Available at: http://gateway.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=16772143.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', *J. Dairy Sci.*, 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Randall, L. V, Green, M. J., Green, L. E., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C. and Huxley, J. N. (2018) 'The contribution of previous lameness events and body condition score to the occurrence of lameness in dairy herds: A study of 2 herds.', *J. Dairy Sci.* United States, 101(2), pp. 1311–1324. doi: 10.3168/jds.2017-13439.
- Reader, J. D., Green, M. J., Kaler, J., Mason, S. A. and Green, L. E. (2011) 'Effect of mobility score on milk yield and activity in dairy cattle', *J. Dairy Sci.*, 94(10), pp. 5045–5052. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4415.
- Rusterholz, A. (1920) 'Das spezifisch-traumatische Klauen-sohlengeschwür des Rindes (Eng: The specific traumatic sole ulcer of claws in cattle)', *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 62, pp. 421–466.

- Tarlton, J. F., Holah, D. E., Evans, K. M., Jones, S., Pearson, G. R. and Webster, A. J. F. (2002) 'Biomechanical and histopathological changes in the support structures of bovine hooves around the time of first calving', *Vet. J.*, 163(2), pp. 196–204. doi: 10.1053/tvjl.2001.0651.
- Thomas, H. J., Miguel-Pacheco, G. G., Bollard, N. J., Archer, S. C., Bell, N. J., Mason, C., Maxwell, O. J. R., Remnant, J. G., Sleeman, P., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2015) 'Evaluation of treatments for claw horn lesions in dairy cows in a randomized controlled trial', *J. Dairy Sci.*, 98(7), pp. 4477–4486. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8982.
- Thomas, H. J., Remnant, J. G., Bollard, N. J., Burrows, A., Whay, H. R., Bell, N. J., Mason, C. and Huxley, J. N. (2016) 'Recovery of chronically lame dairy cows following treatment for claw horn lesions: a randomised controlled trial', *Vet. Rec.*, 178, p. 116. doi: 10.1136/vr.103394.
- Toholj, B., Cincović, M., Stevančević, M., Spasojevic, J., Ivetić, V. and Potkonjak, A. (2013) 'Evaluation of ultrasonography for measuring solar soft tissue thickness as a predictor of sole ulcer formation in Holstein-Friesian dairy cows', *Vet. J.*, 199(2), pp. 290–294. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.11.005.
- Tsuka, T., Ooshita, K., Sugiyama, A., Osaki, T., Okamoto, Y., Minami, S. and Imagawa, T. (2012) 'Quantitative evaluation of bone development of the distal phalanx of the cow hind limb using computed tomography', *J. Dairy Sci.*, 95(1), pp. 127–138. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4316.

TERAPIA CON FLUIDOS PARA VACAS ADULTAS

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Graduado, ACVIM, ECBHM

Departamento de ciencias clínicas de animales grandes, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Biomédicas, de la Universidad de Texas A&M University en College Station, Texas, EE.UU.

Se sabe mucho y se ha escrito mucho acerca de la fluidoterapia para los terneros. La mayoría de terneros deshidratados se deshidratan a causa de la diarrea. Se produce un perfil de electrolito y gas en sangre relativamente uniforme. Uno de los principales trastornos metabólicos es la acidosis. Existen muchos preparados orales comerciales disponibles. Es necesario discutir la terapia de fluidos en vacas maduras de forma separada de la terapia de fluidos de terneros porque las anomalías metabólicas que comúnmente se observa en vacas maduras son bastante diferentes a las de los terneros y otras especies. Pocas soluciones preparadas comercialmente son apropiadas para ganado maduro con alcalosis. Mientras que los terneros neonatos tienden a volverse acidóticos, el ganado maduro tiende a volverse alcalótico. Las excepciones se discuten a continuación. El objetivo de este documento es proporcionar directrices para la estrategia de terapia de fluidos en ganado maduro sin el uso extensivo de datos de laboratorio.

Las enfermedades que sistemáticamente dan como resultado la acidosis metabólica en vacas adultas incluyen el engrasamiento por carbohidratos, obstrucción esofágica o disfagia. Esto es debido a una excesiva fermentación y acumulación de ácido en la digestión de carbohidratos y la pérdida de bicarbonato salival en la obstrucción esofágica y la disfagia. Otras causas menos comunes y menos consistentes incluyen la diarrea, la neumonía, la enfermedad de hígado graso, enfermedad del tracto urinario y vólvulo abomasal en la etapa tardía. En un estudio de más de 600 bovinos, separando aquellos con neumonía, enfermedad del tracto urinario y la diarrea, se indicaron fluidos alcalinizantes en sólo el 16% de las vacas maduras deshidratadas. La terapia agresiva y alcalinizante debe administrarse sin evaluación de laboratorio del estado ácido-base solo en la congestión de carbohidratos y la obstrucción esofágica.

La hipocloridemia y la hipocalemia fueron anormalidades electrolíticas relativamente comunes, que se producían en casi el 50% y el 25% del ganado maduro, respectivamente. Estas tendencias fueron más fuertes en el ganado lechero. Estas anomalías se observaron con mayor frecuencia acompañadas de alcalosis. Los valores elevados de electrolitos fueron poco comunes en este estudio.

Terapia con fluidos para el ganado maduro con acidosis En casos leves de engrasamiento por carbohidratos, la terapia oral puede ser suficiente. Se indica la utilización de agentes alcalinizantes como el hidróxido de magnesio cuando la acidosis sistémica está presente. Si se corrige la acidosis ruminal y el alimento ofensivo es retirado, la acidosis sistémica generalmente se resuelve. Se puede suministrar volumen adicional bombeando solución de electrolito de rumiante, solución salina o agua del grifo intraruminalmente. Las soluciones que contengan glucosa (como electrolitos comerciales para ternero) probablemente no están indicadas porque pueden potenciar la fermentación y la producción de ácido. Si el ganado con engrasamiento por carbohidratos requiere terapia de fluidos durante más de 24 horas, se debe considerar una transición a fluidos no alcalinizantes porque el ganado que se recupera de la congestión de carbohidratos a menudo desarrolla una alcalosis de rebote.

Recuerde, si el rumen está distendido con líquido, no administre fluidos orales. Ya hay un exceso de líquido en el rumen frente a la deshidratación. Al añadir más, sólo aumentará la distensión abdominal. El exceso de líquido debe eliminarse si es posible, se inicia la terapia de rumen alcalinizado y de fluidos intravenosa.

A fin de determinar la cantidad base a administrar, calcular la base total mediante la fórmula: Déficit de bicarbonato (mEq) = Déficit de Base (mEq/l) x 0,3 x peso corporal (kg).

El déficit de base puede ser estimado en 10, 15 o 20 mEq/L para una acidosis leve, moderada y severa, respectivamente. Para una vaca de 600 kg con un déficit estimado de base de 15 mEq/L (acidosis moderada), obtenemos un déficit de 2700 mEq. Si utilizamos una solución al 8.3% de $NaHCO_3$, se requieren 3 L. Si utilizamos una solución al 5% de $NaHCO_3$, se requieren 4.5L. Si utilizamos una solución isotónica de $NaHCO_3$ son necesarios 18L. para corregir la acidosis. El resto del déficit de líquido puede ser reemplazado con una solución electrolítica equilibrada. Debido a que el engrasamiento por carbohidratos está asociado con un alto nivel de lactato en plasma, se debe evitar una solución con lactato si es posible. Recuerde, las soluciones que contienen $NaHCO_3$ - y las que contengan calcio no deben ser mezcladas en el mismo contenedor. Se formará un precipitado.

Terapia de fluido para el ganado con alcalosis La mayoría de las enfermedades gastrointestinales del ganado y muchas otras causas de deshidratación (con la excepción de las mencionadas anteriormente) están asociadas con alcalosis metabólica, hipocalemia e hipocloridemia. El grado de estos cambios puede ser leve (como en el desplazamiento temprano del abomaso izquierdo) o grave (como en el vólvulo del abomaso). Si el tracto gastrointestinal es patente y funcional, el método de elección es la rehidratación oral. Si hay obstrucción, íleo o shock circulatorio, se deben administrar líquidos intravenosos. Cuando se usan soluciones isotónicas, deberán contener sodio en concentraciones aproximadamente fisiológicas, mientras que el potasio y el cloruro deben proporcionarse en concentraciones mayores que los de plasma. Para el ganado lechero, me gusta agregar calcio también. Utilizamos nuestra propia solución de electrolitos rumiantes como fluido de rutina para administración oral o IV. (Tabla 1) Generalmente, si colocamos un catéter intravenoso, administramos al menos 20 litros IV. Al menos la mitad del déficit total debe ser suministrado IV. El equilibrio del déficit de líquido puede ser corregido mediante la administración oral si el tracto gastrointestinal es funcional.

Se puede agregar dextrosa a soluciones intravenosas para vacas anoréxicas o aquellas con cetosis. Cada 500 ml de dextrosa al 50% añadirá 1,5% glucosa a 20 litros de solución. Se pueden agregar hasta cuatro botellas de 500 ml (dando una solución al 5%), aunque prefiero el 2,5%. Alternativamente, se puede usar una solución salina hipertónica (NaCl al 7,2%) para corregir la deshidratación y las anomalías electrolíticas con volúmenes más pequeños de líquido IV y tiempos de infusión más cortos, siempre que se proporcione agua por libre elección o por administración forzada. Para un animal de 500 kg, la dosis es de 2 litros. El resultado final es muy similar a la administración

IV de grandes volúmenes de líquidos isotónicos

Recuerde, las soluciones alcalinizantes (aquellas que contienen lactato, acetato o bicarbonato en concentraciones mayores que las fisiológicas) rara vez se necesitan en el ganado adulto, excepto en los casos mencionados en la sección anterior. Las soluciones orales formuladas para los terneros suelen contener: 1) $NaHCO_3$, que está contraindicado en la alcalosis ruminal (frecuentemente observada en bovinos anorexígenos) 2) la glucosa, que será rápidamente consumida por los microbios del rumen. Por lo tanto, son caros y menos ideales para el ganado maduro.

CONSEJOS PARA LA TERAPIA DE FLUIDOS

- Para la administración "Oral", una sonda nasogástrica funciona bien. Libra por libra, las vacas tienen conductos nasales más pequeños que los caballos, por lo que es necesaria una sonda más pequeña. Al principio se resisten al paso, pero una vez colocado, el tubo se tolera bien y no requiere que alguien lo sostenga como un espéculo frick y un tubo orogástrico. Alternativamente, el sistema de bomba de ganado (McGrath, McCook, NE, EE. UU.) puede ser un sistema de una sola persona, pero no se debe bombear demasiado rápido con la sonda esofágica colocada o puede producirse regurgitación / aspiración.
- Las venas de la oreja son una gran alternativa a la yugular para el cateterismo IV del ganado. Utilizamos un catéter de 2" de calibre 14. Se puede administrar aproximadamente 5-7 litros de líquidos por hora si el catéter está colocado correctamente.
- Si se necesita administración intravenosa de líquidos a largo plazo, la solución electrolítica de rumiantes se debe usar en una relación de aproximadamente 3:1 a 4:1 con glucosa al 5%. De lo contrario ocurrirá, hipernatremia y hyperchloridemia. Está diseñado para ser un reemplazo, no un fluido de mantenimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Roussel AJ, Cohen ND, Holland PS, Taliaoferro L, Green RA, enson PA, Navarre CB (1998), Alterations in acid-base balance and serum electrolyte concentrations in cattle: 632 cases (1984-1994)., *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212: 1769-1775
- Roussel AJ, Taliaoferro L, Navarre CB, Hooper RN (1996), Catheterization of the auricular vein in cattle in cattle:68 cases, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 208: 905-907
- Roussel AJ (1990), Fluid therapy in mature cattle, *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 6(1): 111-123

APÉNDICE

TABLA 1

SOLUCIÓN DE ELECTROLITO PARA RUMIANTES	
140 g	NaCl
30 g	KCl
10 g	CaCl
20 L	H_2O

TABLA 3

CONVERSIONES
La solución de 1,3 % $NaHCO_3$ es isotónica (13g/L)
1g $NaHCO_3$ = 12 mEq HCO_3^-
1g KCl = 14 mEq K^+
1g NaCL = 17 mEq Na^+
La solución de 0,9 % NaCl es isotónica (9 g/L)

ENGLISH VERSION

Fluid therapy for mature cattle

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Diplomate, ACVIM, ECBHM

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, Texas A&M University College Station, Texas, USA

Much is known and much has been written about fluid therapy for calves. Most dehydrated calves are become dehydrated because of diarrhea. A relatively consistent blood gas and electrolyte profile is produced. One of the major metabolic derangements is acidosis. Many commercial oral preparations are available. It is necessary to discuss fluid therapy of mature cattle separately from fluid therapy of calves because the metabolic abnormalities commonly seen in mature cattle are quite different than those of calves and other species. Few commercially prepared solutions are appropriate for mature cattle with alkalosis. While neonatal calves tend to become acidotic mature cattle tend to become alkalotic. The exceptions are discussed below. The purpose of the paper is to provide guidelines for fluid therapy strategies for mature cattle without the use of extensive laboratory data.

Diseases that consistently result in metabolic acidosis in mature cattle include carbohydrate engorgement, and esophageal obstruction or dysphagia. This is due to excessive fermentation and acid build-up in carbohydrate engorgement and salivary bicarbonate loss in esophageal obstruction and dysphagia. Other less common and less consistent causes include diarrhea, pneumonia, fatty liver disease, urinary tract disease and late-stage abomasal volvulus. In a study of over 600 cattle, when those with pneumonia, urinary tract disease and diarrhea were excluded, alkalinizing fluids were indicated in only 16% of dehydrated mature cattle. Aggressive, alkalinizing therapy should be administered without laboratory assessment of acid-base status only in carbohydrate engorgement and esophageal obstruction.

Hypochloridemia and hypokalemia were relatively common electrolyte abnormalities, occurring in nearly 50% and 25% of mature cattle, respectively. These trends were stronger in dairy cattle. These abnormalities were most frequently seen accompanying alkalosis. Elevated electrolyte values were uncommon in this study.

Fluid Therapy for Mature Cattle with Acidosis In mild cases of carbohydrate engorgement, oral therapy may suffice. Because ruminal and systemic acidosis are present, alkalinizing agents like magnesium hydroxide are indicated. If the ruminal acidosis is corrected and the offending feed is withdrawn, the systemic acidosis will usually resolve. Additional volume can be supplied by pumping ruminant electrolyte solution, saline solution or tap water intraruminally. Glucose-containing solutions (like commercial calf electrolytes) are probably not indicated because they may enhance fermentation and acid production. If cattle with carbohydrate engorgement require fluid therapy for greater than 24 hours, one should consider a transition to non-alkalinizing fluids because cattle recovering from carbohydrate engorgement often develop a rebound alkalosis.

Remember, if the rumen is distended with fluid, do not administer oral fluids. There is already an excess of fluid in the rumen in the face of dehydration. Adding more will only increase abdominal distention. The excess fluid should be removed if possible, the rumen alkalinized and intravenous fluid therapy initiated.

In order to determine the amount of base to administer, calculate

the total base requirement using the formula: Bicarbonate deficit (mEq) = Base deficit (mEq/L) x 0.3 x Body weight (kg).

The base deficit can be estimated at 10, 15 or 20 mEq/L for mild, moderate, and severe acidosis, respectively. For a 600 kg cow with an estimated base deficit of 15 mEq/L (moderate acidosis), we obtain a deficit of 2700 mEq. If we use 8.3% $NaHCO_3$ solution, 3 L is required. If we use 5% $NaHCO_3$ solution 4.5 L is required. If we use isotonic $NaHCO_3$ solution, 18 liters is required to correct the acidosis. The remainder of the fluid deficit may be replaced with a balanced electrolyte solution. Because carbohydrate engorgement is associated with a high level of plasma lactate, a lactated solution should be avoided if possible. Remember, $NaHCO_3$- and calcium-containing solutions should not be mixed in the same container. They will form a precipitate.

Fluid Therapy for Cattle with Alkalosis

Most gastrointestinal diseases of cattle and many other causes of dehydration (with the exception those mentioned above) are associated with metabolic alkalosis, hypokalemia and hypochloridemia. The degree of these changes may be mild (as in early left displaced abomasum) or severe (as in abomasus volvulus). If the gastrointestinal tract is patent and functional, oral rehydration is the method of choice. If obstruction, ileus or circulatory shock is present, intravenous fluids should be administered. When isotonic solutions are used, they should contain sodium in approximately physiologic concentrations, while potassium and chloride should be provided in concentrations greater than that of plasma. For dairy cattle, I like to add calcium as well. We use our own ruminant electrolyte solution as a routine fluid for oral or IV administration. (Table 1) Usually if we place a catheter intravenously, we administer at least 20 liters IV. At least half of the total deficit should be given IV. The balance of the fluid deficit can be corrected by oral administration if the G.I. tract is functional.

Dextrose may be added to intravenous solutions for anorectic cows or those with ketosis. Each 500 ml of 50 % dextrose will add 1.5 % glucose to 20 liters of solution. Up to four 500 ml bottles (yielding a 5% solution) can be added, although I prefer 2.5 %. Alternatively, hypertonic saline (7.2% NaCl) solution may be used to correct dehydration and electrolyte abnormalities with smaller volumes of IV fluid and shorter infusion times as long as water is provided either by free choice or forced administration. For a 500 kg animal, the dose is 2 liters. The end result is very similar compared to IV administration of large volumes of isotonic fluid

Remember, alkalinizing solutions (those containing lactate, acetate, or bicarbonate in greater than physiologic concentrations) are seldom needed in adult cattle except in those cases mentioned on the previous section. Oral solutions formulated for calves often contain: 1) $NaHCO_3$, which is contraindicated in ruminal alkalosis (frequently seen in anorectic cattle) 2) glucose, which will be rapidly consumed by ruminal microbes. Therefore, they are expensive and less than ideal for mature cattle.

TIPS FOR FLUID THERAPY

- For “oral” administration, a nasogastric tube works well. Pound for pound, cattle have smaller nasal passages than horses, so a smaller tube is needed. They resist passage at first, but once in place, the tube is tolerated very well and doesn’t require someone to hold it as do a frick speculum and orogastric tube. Alternatively, the cattle pump system (McGrath, McCook, NE, USA) can be a one-person system, but don’t pump too fast with the esophageal probe in place or regurgitation/aspiration may occur.
- Ear veins are a great alternative to the jugular for IV catheterization of cattle. We use a 14-gauge 2” catheter. Approximately 5-7 liters of fluids per hour can be administered if the catheter is placed properly.
- If long term IV fluid administration is needed, the ruminant electrolyte solution should be used in about a 3:1 to 4:1 ratio with 5 % glucose. Otherwise, hypernatremia and hyperchloridemia will occur. It is designed to be a replacement, not a maintenance fluid.

References

Roussel AJ, Cohen ND, Holland PS, Taliaoferro L, Green RA, enson PA, Navarre CB (1998), Alterations in acid-base balance and serum electrolyte concentrations in cattle: 632 cases (1984-1994)., *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212: 1769-1775

Roussel AJ, Taliaoferro L, Navarre CB, Hooper RN (1996), Catheterization of the auricular vein in cattle in cattle:68 cases, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 208: 905-907

Roussel AJ (1990), Fluid therapy in mature cattle, *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 6(1): 111-123

APPENDIX

TABLE 1

RUMINANT ELECTROLYTE SOLUTION	
140 g	NaCl
30 g	KCl
10 g	CaCl
20 L	H_2O

TABLE 3

CONVERSIONS
1.3 % $NaHCO_3$ solution is isotonic (13g/L)
1g $NaHCO_3$ = 12 mEq HCO_3-
1g KCl = 14 mEq K^+
1g NaCL = 17 mEq Na^+
0.9 % NaCl solution is isotonic (9 g/L)

¿CUÁLES DEBERÍAN SER SUS APTITUDES VETERINARIAS PARA IDENTIFICAR Y TRATAR LA COJERA?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos cinco años una gran cantidad de nuevas investigaciones han indicado que la pronta identificación y tratamiento es clave para mantener la cojera bajo control (Groenevelt *et al.*, 2014). La detección y el tratamiento temprano son esenciales porque el tratamiento tardío tiene menos éxito (Thomas *et al.*, 2016) y la cojera predispone a más cojera (Randall *et al.*, 2015, 2018), posiblemente un resultado de daño crónico en la arquitectura de pie (Newsome *et al.*, 2016). A pesar de este conocimiento, la aplicación práctica de la "detección precoz y tratamiento" es difícil. La prevalencia de la cojera en el Reino Unido y en el mundo sigue siendo obstinadamente elevada, con los granjeros identificando las principales barreras para el control de la cojera en la (1) falta de tiempo, (2) la falta de mano de obra calificada y capacitación y (3) la falta de adecuadas instalaciones de fresado (Leach *et al.*, 2010). Las razones de la inactividad en la cojera van más allá, como se describe en alguna investigación social perspicaz (Horseman *et al.*, 2014).

Este documento se centra en la gestión de control de cojeras en la granja. La charla estará centrada en un caso de estudio en curso que tenemos en la Synergy Farm Health que hemos implementado en la granja, utilizando un enfoque de equipo. Otros estudios de casos similares en la práctica serán examinados, con ejemplos de cómo los veterinarios pueden involucrar a los granjeros, motivar a la gente e impulsar mejoras en la cojera en la granja.

Un caso de estudio de la utilización de un enfoque de equipo para implementar un programa de control de cojeras en la granja

Un cliente se acercó a la práctica con un problema de cojera que estaba luchando para gestionar; la prevalencia de la cojera en la región era del 25-30%. La granja ordeñaba 250 vacas Holstein Friesian dos veces al día a través de un 18x36 swingover parlour, pariendo durante todo el año. Las vacas fueron alojadas en los cubículos con colchonetas de goma, lecho de paja y suelo de cemento. La zona de recogida era de suelo de goma y las vacas con rendimientos bajos podían pastar por lo menos 100 día al año. Un recortador de pezuñas independiente asistía a la granja mensualmente hasta el comienzo de este programa. La dermatitis digital estaba razonablemente bien controlada a través de pediluvios dos veces a la semana con formalina al 2%.

Hemos desarrollado e implementado un completo programa de control de la cojera, con el objetivo de ofrecer un servicio comercial que redujera la cojera en la granja a través de la detección temprana y el tratamiento de vacas cojas. Los objetivos incluyeron:

1. Realizar todos los arreglos de pezuña de rutina (2/ vaca/ lactancia) y toda la detección y tratamiento de cojeras.

2. Asistir a nuevas vacas cojas dentro de las 48 horas ("coja" fue definido como la puntuación de la movilidad 2 o 3, según se describe a continuación).

3. Carga para el programa basado en el número de vacas en el rebaño.

4. Utilización de ayudas tecnológicas para ofrecer un servicio eficiente.

Se utilizaron Tres métodos de detección de cojera: 1) las puntuaciones de movilidad quincenales por un solo ROM (registro de marcadores de la movilidad), donde la puntuación 0 es una perfecta movilidad, puntuación 1 es imperfecta pero no se identifica fácilmente como cojas en una pata, puntuación 2 es fácilmente identificable como cojas en una pierna y puntuación 3 es coja y no pueden seguir el ritmo de la marcha de un rebaño sano (AHDB Dairy, UK), 2) usando la detección automática de cojera CowAlert® System (Ice Robotics, Edimburgo; sistema ya instalado en la granja), que utiliza algoritmos de tiempo acostado para detectar la cojera. El equipo podría ver CowAlert® online. 3) El personal de la granja podría alertar al equipo a cualquier otra vaca coja.

El equipo que prestaba el servicio constaba de dos veterinarios (asistiendo a vacas cojas) y dos Vet Techs (uno de realizando todos los arreglos de pezuñas de rutina y algunas vacas cojas, y una puntuación de movilidad). Se confió en el personal de la granja para separar vacas cojas a petición y se avisó de que avisaran si se percataban de vacas cojas adicionales. Ice Robotics proporcionó asesoramiento técnico para el sistema CowAlert®. La comunicación entre todos los miembros del equipo y personal de la granja era predominantemente a través de un grupo de WhatsApp. Fue utilizado un grupo de recorte de pezuñas en la granja para los tratamientos de cojera, y todo el equipo de tratamiento de la cojera (herramientas y materiales) se mantuvo en la granja y era re-abastecido por el agricultor.

El objetivo era asistir a vacas recién cojas dentro del periodo de 48 horas y tratarlas según la mejor evidencia disponible (Thomas *et al.*, 2015). El sistema de triaje veterinario permitía a Vet Techs remitir a vacas para mayor atención veterinaria. Se diseñó una hoja de cálculo online (Google Sheets) para capturar todos los tratamientos de cojeras y automáticamente se re-programaron visitas. También permitió al equipo acceder a registros en vivo y hacer un seguimiento de los casos estrechamente a lo largo del tiempo. Los trabajos necesarios durante un período de 12 meses fue estimado y el proyecto fue encargado a un estándar ligeramente por debajo de la tasa estándar Tech Vet. Esto funcionó como a £50 por vaca y año.

RESULTADOS

En la puntuación de movilidad inicial en enero de 2018, el 27% del rebaño de ordeño estaba cojo (18% tenían 2 de puntuación de movilidad y 9% eran puntuación 3). En mayo, el 10% de la cabaña tenía puntuación 2 y ninguno se puntuación 3.

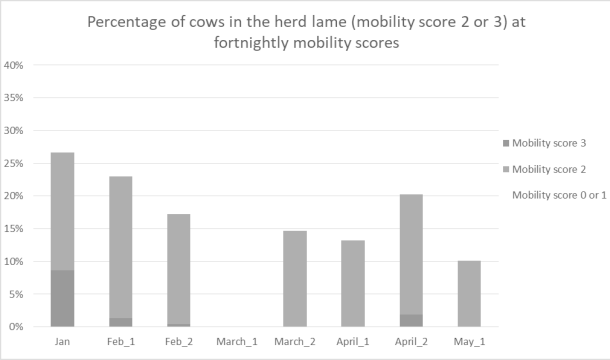


Figura 1: Las puntuaciones de movilidad quincenales entre el comienzo del programa y el tiempo de la escritura (mayo de 2018). (Datos ausentes desde principios de marzo debido a las inclemencias meteorológicas).

En el momento de redactar el presente informe (mayo de 2018), más de 120 vacas cojas habían sido atendidas. Las causas más frecuentes de cojera fueron lesiones únicas y de la enfermedad de línea blanca y la infección de dermatitis digital en las pezuñas fue una razón común de presentación repetida.

Tanto los datos de movilidad y los de lesiones serán presentados y discutidos, así como los aspectos financieros desde el punto de vista tanto del veterinario y del granjero. Para el veterinario, la tarifa horaria equivalente cargada al proyecto fue baja, pero el recorte en esta finca fue un nuevo flujo de ingresos. Este proyecto fue también con carga frontal, con la participación de veterinarios y, en teoría, los datos proporcionados por los veterinarios disminuirán con el tiempo. El agricultor obtiene ingresos de las vacas de desecho que de otro modo habrían muertos en las explotaciones. Afirman que la fertilidad ha mejorado (aunque esto es difícil de desentrañar el coste/beneficio de un programa sobre la fertilidad y la producción de leche). El personal de la granja dicen estar aliviados de que la cojera esté siendo gestionada, y en el Reino Unido una reducción en la cojera como esta podría ayudar a un granjero a evitar sanciones en su contrato de leche. El beneficio económico para el agricultor, por lo tanto, parece ser grande, aunque es difícil cuantificar exactamente.

DISCUSIÓN

Los datos preliminares muestran que este enfoque reduce rápidamente la cojera en la granja. El éxito del tratamiento y los efectos duraderos los niveles de cojera no son evidentes aún, y el énfasis debe pasar ahora a reducir el índice de casos de cojera.

Los compradores de leche en el Reino Unido ya no toleran altos niveles de cojera; esto crea oportunidades para la prestación de servicios de cojera. Los veterinarios han sido criticados por ser complacientes con la cojera, y de conservar una participación del trabajo de la cojera, entonces debemos ser capaces de ofrecer soluciones. Por lo tanto, aunque este programa exige una gran dedicación de tiempo y no fue acusado en la práctica la plena tarifa horaria, dirigió una necesidad del granjero y fue un nuevo flujo de ingresos para la práctica.

Podremos demostrar algunos de los beneficios económicos para los granjeros, por ejemplo, el valor obtenido por vaca sacrificada versus la pérdida de la mortalidad en las granjas. Un anterior proyecto similar en otra comunidad descubrió que los ingresos obtenidos de los sacrificios que de otro modo serían coste como mortalidades en la granja pagaron por todo el servicio de prevención (Synergy Farm Health 2014, datos no publicados). Otros beneficios financieros profundos como la fertilidad y el rendimiento serán difíciles de demostrar (Willshire and Bell, 2009).

Los veterinarios deberían ser capaces de ayudar a resolver problemas de cojera en la granja. Este fue una forma de abordar un problema, aunque reactiva. El programa de transición hacia un enfoque proactivo en el que se reduzcan los casos de cojera, en lugar de simplemente responder a vacas cojas.

CONCLUSIÓN

Este enfoque intensivo es posible cuando un agricultor está altamente motivado para controlar la cojera y un equipo trabaja junto. El papel del veterinario en este caso era tanto para tratar la cojera clínica y supervisar todo el programa de la enfermedad, tomando roles tanto prácticos como de asesoramiento. Somos afortunados en Synergy Farm Health de ser parte de un gran equipo, lo que nos permite ofrecer este paquete completo, pero el enfoque no debe ser emitido por un equipo perteneciente a una sola empresa. El veterinario es parte del equipo de granja y deben trabajar con el personal de granja y los recortadores de pezuña como un veterinario equino debería trabajar con un herrador. Así, si el veterinario granja trabaja con recortadores de pezuña independientes y personal de la granja, utilizando la tecnología, buena comunicación y un enfoque de equipo, la cojera puede estar controlada.

BIBLIOGRAFÍA

- Groenevelt, M., Main, D. C. J., Tisdall, D., Knowles, T. G. and Bell, N. J. (2014) 'Measuring the response to therapeutic foot trimming in dairy cows with fortnightly lameness scoring', Vet. J., 201(3), pp. 283–288. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.017.
- Horseman, S. V., Roe, E. J., Huxley, J. N., Bell, N. J., Mason, C. S. and Whay, H. R. (2014) 'The use of in-depth interviews to understand the process of treating lame dairy cows from the farmers' perspective', Anim. Welf., 23(2), pp. 157–165. doi: 10.7120/09627286.23.2.157.
- Leach, K. A., Whay, H. R., Barker, Z. E., Bell, A. K., Maggs, C. M. and Main, D. C. J. (2010) 'Barriers to lameness reduction reported by dairy farmers: time pressures limit cattle lameness control', in Proc. Cattle Lameness Conf., pp. 41–42.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C. S., Sturrock, C. J., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2016) 'Linking Bone Development on the caudal aspect of the Distal Phalanx with Lameness during Life', J. Dairy Sci., 99(6), pp. 4512–4525. doi: 10.3168/jds.2015-10202.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', J. Dairy Sci., 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Randall, L. V, Green, M. J., Green, L. E., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C. and Huxley, J. N. (2018) 'The contribution of previous lameness events and body condition score to the occurrence of lameness in dairy herds: A study of 2 herds.', J. Dairy Sci. United States, 101(2), pp. 1311–1324. doi: 10.3168/jds.2017-13439.
- Thomas, H. J., Miguel-Pacheco, G. G., Bollard, N. J., Archer, S. C., Bell, N. J., Mason, C., Maxwell, O. J. R., Remnant, J. G., Sleeman, P., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2015) 'Evaluation of treatments for claw horn lesions in dairy cows in a randomized controlled trial', J. Dairy Sci., 98(7), pp. 4477–4486. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8982.

- Thomas, H. J., Remnant, J. G., Bollard, N. J., Burrows, A., Whay, H. R., Bell, N. J., Mason, C. and Huxley, J. N. (2016) 'Recovery of chronically lame dairy cows following treatment for claw horn lesions: a randomised controlled trial', Vet. Rec., 178, p. 116. doi: 10.1136/vr.103394.
- Willshire, J. A. and Bell, N. J. (2009) 'An economic review of cattle lameness', Cattle Pract., 17(2), pp. 136–141.

ENGLISH VERSION

What should your veterinary aptitudes be to identify and treat lameness?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

INTRO

During the last five years a large amount of new research has indicated that prompt identification and treatment is key to bringing lameness under control (Groenevelt *et al.*, 2014). Early detection and treatment are essential because delayed treatment has poorer success (Thomas *et al.*, 2016) and lameness greatly predisposes further lameness (Randall *et al.*, 2015, 2018)which provides an estimate of the contribution that a risk factor makes toward the total number of disease events in a population, has not been explored for lameness using longitudinal data with repeated measures. Estimation of PAF helps to identify control measures that could lead to the largest improvements on-farm. The aim of this study was to use longitudinal data to evaluate the proportion of lameness that could be avoided in 2 separate herds (2 populations, possibly a result of chronic damage to the foot architecture (Newsome *et al.*, 2016). Despite this knowledge, the practical application of "early detection and treatment" is challenging. Lameness prevalence in the UK and worldwide remains stubbornly high, with farmers identifying the key barriers to lameness control as (1) lack of time, (2) lack of skilled labour and training and (3) lack of appropriate trimming facilities (Leach *et al.*, 2010). The reasons for inactivity on lameness go further than this, as outlined in some insightful social research (Horseman *et al.*, 2014).

This paper focusses on driving lameness control on farm. Central to the talk will be an ongoing case study that we at Synergy Farm Health have implemented on farm, using a team approach. Other similar case studies at the practice will be discussed, with examples of how vets can engage farmers, motivate people and drive forward improvements in lameness on farm.

A case study of using a team approach to implement a lameness control programme on farm

A client approached the practice with a lameness problem that they were struggling to manage; lameness prevalence was in the region 25-30%. The farm milked 250 Holstein Friesian cows twice daily through a 18x36 swingover parlour, calving year round. Cows were housed in cubicle sheds with rubber mattresses, straw bedding and concrete flooring. The collecting yard was rubber matted and low yielders had access to grazing for at least 100 days per year. An independent foot trimmer attended the farm monthly until the beginning of this programme. Digital dermatitis was reasonably well controlled through footbathing twice weekly with formalin 2%.

We devised and implemented a complete lameness control programme, with the aim of delivering a commercial service that reduced lameness on farm through early detection and treatment of lame cows. Objectives included:

1. Perform all routine trims (2/ cow/ lactation) and all lameness detection and treatment.
2. Attend newly lame cows within 48 hours ("lame" was defined as mobility score 2 or 3, as outlined below).
3. Charge for the programme based on the number of cows in the herd.
4. Use technological aids to deliver an efficient service.

Three methods of lameness detection were used: 1) fortnightly mobility scores by a single ROMS (register of mobility scorers) scorer, where score 0 is perfect mobility, score 1 is imperfect mobility but not identifiably lame on a leg, score 2 is identifiably lame on a leg and score 3 is lame and cannot keep up with the walking pace of a healthy herd (AHDB Dairy, UK), 2) automatic lameness detection using the CowAlert® system (Ice Robotics, Edinburgh; system already installed on farm), which uses lying time algorithms to detect lameness. The team could view CowAlert® online. 3) farm staff could alert the team to any other lame cows.

The team delivering the service comprised of two vets (attending to lame cows) and two Vet Techs (one performing all routine trims and some lame cows, and one mobility scoring). Farm staff were relied upon to separate out lame cows upon request and alert the team if they noticed additional lame cows. Ice Robotics provided technical advice for the Cow Alert® system. Communication between all team members and farm staff was predominantly via a WhatsApp group. An on-farm foot trimming crush was used for lameness treatments, and all lameness treatment equipment (tools and materials) were kept on-farm and re-stocked by the farmer.

The target was to attend newly lame cows within 48 hours and treat according to the best available evidence (Thomas *et al.*, 2015). A triage system enabled Vet Techs to refer cows for further veterinary attention. An online spreadsheet (Google Sheets) was designed to capture all lameness treatments and automatically scheduled re-visits. It also allowed the team to access live records and to track cases closely over time. The required work over a 12 month period was estimated and the project was charged at slightly below the standard Vet Tech rate. This worked out as £50 per cow per year.

RESULTS

At the initial mobility score in January 2018, 27% of the milking herd were lame (18% were mobility score 2 and 9% were score 3). By May, 10% of the herd were score 2 and none were score 3.

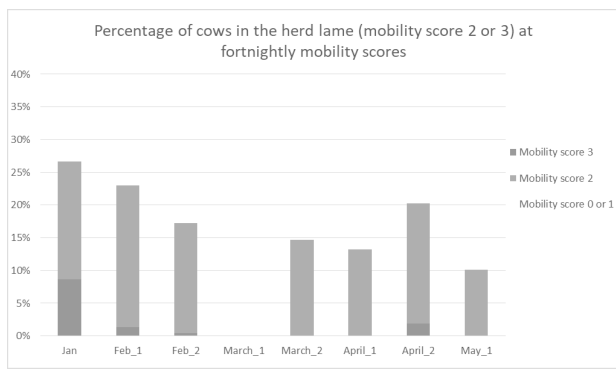


Figure 1: Fortnightly mobility scores between the beginning of the programme and time of writing (May 2018). (Data absent from early March due to inclement weather.)

At the time of writing (May 2018), over 120 separate lame cows

had been attended. The most frequent causes of lameness were sole lesions and white line disease, and digital dermatitis infection on claw horn lesions was a common reason for re-presentation.

Both mobility and lesion data will be presented and discussed, as well as financial aspects from the view of both the vet and the farmer. For the vet, the equivalent hourly rate charged for the project was low, but the trimming on this farm was a new revenue stream. This project was also front-loaded with veterinary involvement and in theory, vet input will reduce with time. For the farmer, the farmer gained revenue from cull cows that would otherwise have been on-farm mortalities. They report the fertility had improved (although this is difficult to tease out the cost/benefit of such a programme on fertility and milk production). Farm staff report being relieved that lameness is being managed, and in the UK a reduction in lameness such as this could help a farmer avoid penalties on their milk contract. The financial benefit for the farmer therefore appears to be large, although it is difficult to quantify exactly.

DISCUSSION

Preliminary data show that this approach rapidly reduced lameness on farm. Treatment success and lasting effects on lameness levels are yet to become evident, and emphasis must now turn towards reducing the index lameness cases.

Milk buyers in the UK are no longer tolerating high lameness levels; this creates opportunities for the provision of lameness services. Vets have been criticised for being complacent about lameness, and to retain a share of the lameness work then we must be able to offer solutions. Hence, whilst this programme required a large time commitment and was not charged at the practice's full hourly rate, it addressed a farmer's need and was a new revenue stream for the practice.

We will be able to demonstrate some of the economic benefits to the farmer, for example the value gained per cull cow versus the loss for on-farm mortality. A similar previous project on another farm found the revenue gained from culls that would otherwise have cost as on-farm mortalities paid for the entire prevention service (Synergy Farm Health 2014, unpublished data). Other profound financial benefits such as fertility and yield will be difficult to demonstrate (Willshire and Bell, 2009).

Vets should be able to help address lameness problems on farm. This was one approach to tackling a problem, albeit reactive. The programme should transition towards a proactive approach whereby index lameness cases are reduced, rather than simply responding to lame cows.

CONCLUSION

This intensive approach is possible when a farmer is highly motivated to control lameness and a team works together. The role of the vet in this case was both to treat clinical lameness and oversee the whole disease programme, taking both practical and advisory roles. We are lucky at Synergy Farm Health to be part of a large team, allowing us to offer this complete package, but the approach does not need to be delivered by a team belonging to only one company. The vet is part of the team on-farm and should work with farm staff and foot trimmers as an equine vet should work with a farrier. So, if the farm veterinarian works with independent foot trimmers and farm staff, using technology, good communication and a team approach, lameness can be brought under control.

REFERENCES

- Groenevelt, M., Main, D. C. J., Tisdall, D., Knowles, T. G. and Bell, N. J. (2014) 'Measuring the response to therapeutic foot trimming in dairy cows with fortnightly lameness scoring', *Vet. J.*, 201(3), pp. 283–288. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.017.
- Horseman, S. V., Roe, E. J., Huxley, J. N., Bell, N. J., Mason, C. S. and Whay, H. R. (2014) 'The use of in-depth interviews to understand the process of treating lame dairy cows from the farmers' perspective', *Anim. Welf.*, 23(2), pp. 157–165. doi: 10.7120/09627286.23.2.157.
- Leach, K. A., Whay, H. R., Barker, Z. E., Bell, A. K., Maggs, C. M. and Main, D. C. J. (2010) 'Barriers to lameness reduction reported by dairy farmers: time pressures limit cattle lameness control', in *Proc. Cattle Lameness Conf.*, pp. 41–42.
- Newsome, R. F., Green, M. J., Bell, N. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C. S., Sturrock, C. J., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2016) 'Linking Bone Development on the caudal aspect of the Distal Phalanx with Lameness during Life', *J. Dairy Sci.*, 99(6), pp. 4512–4525. doi: 10.3168/jds.2015-10202.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', *J. Dairy Sci.*, 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Randall, L. V, Green, M. J., Green, L. E., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C. and Huxley, J. N. (2018) 'The contribution of previous lameness events and body condition score to the occurrence of lameness in dairy herds: A study of 2 herds.', *J. Dairy Sci.* United States, 101(2), pp. 1311–1324. doi: 10.3168/jds.2017-13439.
- Thomas, H. J., Miguel-Pacheco, G. G., Bollard, N. J., Archer, S. C., Bell, N. J., Mason, C., Maxwell, O. J. R., Remnant, J. G., Sleeman, P., Whay, H. R. and Huxley, J. N. (2015) 'Evaluation of treatments for claw horn lesions in dairy cows in a randomized controlled trial', *J. Dairy Sci.*, 98(7), pp. 4477–4486. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8982.
- Thomas, H. J., Remnant, J. G., Bollard, N. J., Burrows, A., Whay, H. R., Bell, N. J., Mason, C. and Huxley, J. N. (2016) 'Recovery of chronically lame dairy cows following treatment for claw horn lesions: a randomised controlled trial', *Vet. Rec.*, 178, p. 116. doi: 10.1136/vr.103394.
- Willshire, J. A. and Bell, N. J. (2009) 'An economic review of cattle lameness', *Cattle Pract.*, 17(2), pp. 136–141.

PROTEÍNA EN SUERO, PRUEBAS HEPÁTICAS Y PRUEBAS DE LA FUNCIÓN RENAL EN BOVINOS

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Diplomate, ACVIM, ECBHM

Departamento de ciencias clínicas de animales grandes, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Biomédicas, de la Universidad de Texas A&M University en College Station, Texas, EE.UU.

Actualmente, la mayoría de los laboratorios realizan análisis de suero por medios químicos identificando un gran número de analitos al mismo tiempo. Esto es rentable y proporciona mucha información. Sin embargo, algunas de las pruebas son útiles con más frecuencia que otras. En esta sesión, hablaremos de las pruebas de química clínica que creo que son las más importantes y útiles: proteína en suero, enzimas hepáticas y las pruebas de la función renal.

PROTEÍNA EN SUERO

El suero contiene muchas proteínas diferentes, pero los dos componentes con significado diagnóstico relativa su perfil químico son la albúmina y la globulina. La albúmina se sintetiza en el hígado y es la proteína responsable principalmente de la presión oncótica del plasma. Mientras que la albúmina es una entidad relativamente homogénea, hay muchos tipos de globulinas que componen la fracción de proteína que llamamos "globulina" en este documento. Una gran parte de la fracción globulina se compone de inmunoglobulinas, que son sintetizadas por el tejido linfoide. La mayoría de los demás globulinas se sintetizan por el hígado mientras que unas pocas son sintetizadas por otros tejidos. La proporción de albúmina/globulina (tasa A:G) es bastante constante en el ganado saludable (rango de referencia 0.84-0.94). La mayoría de los perfiles químicos miden la albúmina y la proteína sérica total, mientras que el valor de la globulina normalmente se obtiene restando la primera de la segunda. Uno debe recordar que si *se utiliza plasma en lugar de suero, se incluirá el fibrinógeno* en el valor de la proteína total y, por ende, el valor derivado de la globulina; esto puede confundir la interpretación de la proteína total y de la globulina. La discrepancia no puede ser totalmente rectificada simplemente restando el valor del fibrinógeno, que a menudo se determina por refractometría, del valor de proteínas plasmáticas en el perfil debido a la diferencia en los métodos de análisis. Como la mayoría de los intervalos de referencia se establecen para las proteínas en suero, nosotros opinamos que el suero es la mejor opción a la hora de evaluar la proteína en sangre. Se puede lograr una evaluación más específica y detallada de la fracción globulina mediante la electroforesis, inmunoensayo radiales, y otros métodos que no se tratarán aquí.

La hiperproteinemia puede ser el resultado de un aumento en las concentraciones de albúmina, globulina o de ambos. La única causa de la hiperalbuminemia es la deshidratación. En una situación de deshidratación, la albúmina y la globulina aumentan, pero la superación del rango de referencia dependerá del grado de deshidratación y de la concentración original de proteína en suero. La hiperproteinemia sin deshidratación casi siempre ocurre a consecuencia de una hiperglobulinemia. La globulina aumenta considerablemente con la edad en las vacas lecheras. La diferencia entre vacas de dos años y de cinco años de edad fue de 1,5 g/dl, potencialmente una diferencia clínicamente relevante. Las causas de la hyperglobulinemia incluyen enfermedades inflamatorias crónicas (reticuloperitonitis traumática, abscesos hepáticos, neumonía crónica) y enfermedades hepáticas. En el caso de enfermedades inflamatorias crónicas, la relación A:G generalmente disminuye debido a un incremento de la globulina que suele ir acompañado de una pequeña disminución de la albúmina. En las enfermedades hepáticas crónicas, la disminución de la albúmina puede ser considerable. La globulina sérica puede ser uno de los valores más subestimados en el perfil químico de rutina. Los cambios en el hemograma son a menudo bastante sutiles y transitorios en las enfermedades inflamatorias del ganado, en comparación con otras especies. Por lo tanto, la evaluación de la globulina sérica es de gran valor en las enfermedades inflamatorias crónicas.

En vacas maduras, la hipoproteinemia es generalmente el resultado de la hipoalbuminemia o panhipoproteinemia. La hipoalbuminemia se produce cuando 1) la producción hepática es insuficiente para satisfacer la demanda, ya sea como resultado de la insuficiencia de la producción o del aumento del consumo o 2) hay una pérdida excesiva de albúmina. La producción insuficiente puede ocurrir en animales con enfermedades hepáticas severas y crónicas o como consecuencia de la ingesta inadecuada de proteínas, la digestión o la absorción. Debido a que la albúmina bovina tiene una vida media de 16,5 días y la capacidad de reserva del tejido hepático es tan grande, la enfermedad hepática debe ser crónica y severa para causar graves casos de hipoalbuminemia. En la experiencia de los autores, el ganado con enfermedades debilitantes crónicas por muchas causas pueden ser hipoalbuminémicas con valores de proteína baja o normal. Si la relación A:G es baja, se debe sospechar de una enfermedad inflamatoria crónica. En enfermedades agudas y subagudas, la hipoalbuminemia a menudo resulta de la pérdida de albúmina. Las vías por donde se puede perder albúmina incluyen el riñón (especialmente el glomérulos), el tracto gastrointestinal, hemorragias y la exudación. En muchos casos, la pérdida de albúmina puede venir acompañada de la pérdida de globulina, resultando en panhipoprotienemia.

La amiloidosis renal puede llevar a una pérdida severa de albúmina en la orina, debido al daño glomerular. En un informe, 5 de 6 vacas con amiloidosis tenían hipoglobulinemia junto con la hipoalbuminemia. Una vez más, la relación A:G resultó útil para evaluar las proteínas séricas. La relación A:G fue de <0,5 en las 6 vacas, indicando una mayor pérdida de albúmina que de globulina. La panhipoproteinemia es la regla en las gastro-enteropatías que causan una pérdida de proteína, como el parasitismo del nematodo, paratuberculosis y la salmonelosis. Como la digestión y la absorción se pueden ver alteradas en estas enfermedades, la disminución de la producción debido a la deficiencia de aminoácidos puede contribuir a la hipoproteinemia en casos crónicos. Las hemorragias agudas causan una panhipoproteinemia acompañada por anemia.

La hipoglobulinemia es infrecuente en los bovinos excepto en los neonatos, ya sea como resultado de un error de transferencia pasiva de anticuerpos maternos o una infección severa cuando

los anticuerpos transferidos se consumen rápidamente antes de que la producción eficiente de anticuerpos endógenas por parte de la ternera joven. En terneros que adquieren una inmunidad pasiva adecuada después del nacimiento, la concentración de globulina alcanza su máximo valor alrededor de los 2 meses de edad. En los becerros calostro-privados, la producción de globulina endógena comienza inmediatamente y los resultados en la concentración de globulina sérica aumentan constantemente desde el nacimiento.

La evaluación de pacientes con hipoproteinemia debería incluir un análisis de orina para detectar la proteinuria y hematuria, pruebas de sangre oculta en heces, un perfil hepático, examen de parásitos (internos y externos) y el volumen de células empaquetadas o un hemograma completo.

PRUEBAS HEPATICAS

Las enzimas extravasadas, aspartato transaminasa (AST, antiguamente SGOT), L-iditol (anteriormente sorbitol) deshidrogenasa (IDH), ornitina carbamoiltransferase (OCT), la glutamato deshidrogenasa (GDH) y lactato deshidrogenasa (LDH) se han utilizado para evaluar el hígado. De estas, la AST, LDH e IDH son los más populares en los Estados Unidos. Tanto la AST y LDH se encuentran en una gran variedad de tejidos, de los cuales los más importantes son el hígado y los músculos. El daño muscular, especialmente debido al decúbito en el ganado vacuno, puede resultar en aumentos notables de ambos; por lo tanto, la AST y la LDH deben interpretarse en conjunción con una enzima específica del hígado (como la GGT), o un enzima específica del músculo como la creatina kinasa (CK) para determinar el origen de la injuria tisular. Generalmente, valores altos de AST o de LDH y valores normales de CK indican una enfermedad en el hígado. Si el suero se le permite permanecer en el coágulo demasiado tiempo o si la muestra es hemolizada, los valores del AST y LDH pueden dar máximos falsos porque ambas enzimas se encuentran en los glóbulos rojos. Como las concentraciones de estas enzimas son altas en el suero cuando el daño a las membranas celulares permite su huida del citosol hepático, señalan un daño celular, no una función hepática anormal. De hecho, en las enfermedades crónicas o hepáticas que progresan lentamente, estas enzimas pueden tener valores dentro o por debajo del rango de referencia porque son pocos los hepatocitos que están siendo dañados en un momento dado, o porque la masa hepatocelular esta considerablemente reducido. Por consiguiente, estas enzimas pueden ser indicadores más sensibles de una enfermedad aguda, como algunas toxicidades y la hepatitis infecciosa. También pueden ser altos en vacas con lipidosis hepática, congestión venosa pasiva y enfermedades que causan la distensión del estómago no glandular (forestomach) y del abomaso.

La IDH es un indicador sensible y específico de daño hepatocelular. Por desgracia, su utilidad es limitada por su relativa inestabilidad in vitro, porque la actividad en suero disminuye significativamente después de sólo 24 horas si la muestra se refrigera o 72 horas si se congela. El transporte de las muestras al laboratorio debe ser rápido. El perfil sérico de la IDH tras una lesión hepatocelular se caracteriza por una empinada subida rápida seguida por una disminución rápida, por tanto, no es útil como indicador de una enfermedad hepática crónica.

Las enzimas en colestásis, gamma- glutamiltransferasa (GGT) y la fosfatasa alcalina del suero (SAP), son más sensibles a la obstrucción biliar causada por condiciones tales como la fascioliasis o colelitiasis. Las enzimas en colestásis son más propensas a dar lecturas altas en enfermedades hepáticas crónicas que las enzimas extravasadas porque la fibrosis constriñe y bloquea algunos de los conductos biliares.

Aunque la GGT se encuentra en muchos tejidos, el origen de la casi totalidad de la GGT en el suero son las membranas biliares y hepatocelulares. Por lo tanto, es una de las pruebas más específicas del hígado disponible para los veterinarios. La GGT en suero no se ve muy afectada por la enfermedad renal, aunque la GGT en orina aumenta drásticamente con la enfermedad tubular. La GGT sérica aumenta principalmente en enfermedades colestásicas, aunque las enfermedades hepatocelulares en las que la colestasis es una característica secundaria, también provoca un aumento de la GGT. Como tiende a disminuir a un ritmo inferior al IDH (y las otras enzimas extravasadas), puede ser de mayor valor para identificar a los bovinos con enfermedad hepática crónica. La GGT sérica de terneros pre-calostrales es similar al de las vacas maduras, pero las concentraciones séricas aumentan drásticamente tras el consumo de calostro, que es rico en GGT. A las 24 horas de la ingesta del calostro, la concentración de GGT en suero es de 50 a 100 veces mayor que la se encuentra en terneros privados del calostro. En realidad, la GGT sérica puede utilizarse para estimar el éxito de la transferencia pasiva, pero no para detectar enfermedades hepáticas en neonatos.

La fosfatasa alcalina en suero, un indicador útil de enfermedades hepáticas o colestasis en los perros, se incluye a menudo en los perfiles químicos del ganado. Se han identificado varias isoenzimas de diferentes tejidos, y casi todo el SAP en el ganado saludable es de origen óseo. En bovinos con enfermedad hepática, la SAP de origen hepático aumenta, pero el aumento no es de gran magnitud. Por lo tanto, la SAP es de escaso valor en el diagnóstico de una enfermedad hepática en ganado. Curiosamente, aunque no claramente explicable, se descubrió que la SAP ere útil como indicador pronóstico en bovinos con vólvulo abomasal.

La bilirrubina es un producto de la descomposición de la hemoglobina que es conjugada y excretada por el hígado. La bilirrubina no conjugada (o directa) es el resultado de la descomposición rápida de la hemoglobina que se produce en el caso de una hemólisis aguda. La bilirrubina conjugada (o indirecta) se acumula en el plasma cuando hay una obstrucción biliar intra- o extrahepática. La concentración plasmática de bilirrubina en el ganado saludable es muy baja comparada con la de las otras especies; y la magnitud del aumento es relativamente pequeña, incluso en el caso de enfermedad hepática severa. La bilirrubinemia severa e ictericia en el ganado es casi siempre un resultado de la hemólisis, y por lo tanto, es principalmente debido a la bilirrubina directa.

Aunque generalmente se considera un índice de la función renal, el nitrógeno ureico en sangre o suero (BUN o SUN) también es un indicador de la función hepática. En el hígado, el amoníaco se convierte en urea. En casos de una insuficiencia hepática severa o anomalía vascular parcial, el valor de SUN es bajo, mientras que valor del amoníaco es alto. Sin embargo, un SUN bajo no está asociado sólo con una enfermedad hepática. Como los microbios del rumen utilizan la urea para sintetizar proteínas, el rumen actúa como una “esponja” de la urea en el ganado anoréxico o privado de proteína.

Los rangos de referencia de laboratorio para ganado bovino maduro no son válidos para terneros recién nacidos, especialmente aquellos menores de una semana de edad. Los terneros recién nacidos tienen concentraciones de bilirrubina, AST, SAP, y la SBA algo mayores y unas concentraciones de GGT significativamente mayores que los rumiantes maduros.

Recientemente, la ictericia y la hiperbilirrubinemia asociada con la falta de ingesta colostral fueron descritos en terneros de 1 a 3 días de edad en el momento del sacrificio. Aunque no se determinó en este estudio, es razonable sospechar que el mismo fenómeno se produce en los terneros que no estén destinados al sacrificio. En otro estudio reciente de 47 terneros con enfermedad hepática, la prueba no fue lo suficientemente sensible para ser utilizado solo, lo que llevó a los autores a recomendar el uso de una batería de pruebas para detectar la enfermedad hepática de terneros.

PRUEBAS RENALES

La eliminación de desechos nitrogenados, como la urea y la creatinina (Cr), y la concentración de la orina para conservar el agua corporal son dos de las muchas funciones vitales realizadas por el riñón. La evaluación de estas funciones es explotada en el diagnóstico de la enfermedad renal. El nitrógeno ureico en suero o sangre (BUN o SUN) y la creatinina sérica (Cr) son índices aproximados de la tasa de filtración glomerular. La generosa capacidad de reserva del riñón hace del SUN y la Cr indicadores insensibles a la función renal; se requiere una pérdida de masa renal funcional del 75% para que suceda la azotemia. Algo más sensible que el SUN y la Cr, la gravedad específica de la orina (USG) puede detectar una pérdida de tejido renal funcional de aproximadamente el 67%. Es más fácil estimar la USG mediante la refractometría. Por convención, una USG de > 1,025 es considerada como indicativa de la capacidad de concentración adecuada ante la deshidratación o azotemia. Es bastante común, sin embargo, para que ganado bovino con una hidratación normal, especialmente en ganado lechero, encontrar una USG <1,025.

La azotemia, la acumulación de desechos nitrogenados en la sangre, se refleja en el perfil de la química sérica con altos valores de SUN o Cr. Recuerde - la *AZOTEMIA NO ES IGUAL A ENFERMEDAD RENAL!* La azotemia pueden clasificarse como renal (debido a una enfermedad renal), pre-renal (debido a la lentitud del flujo sanguíneo renal, como en estado de shock o deshidratación), o postrenal (debido a la obstrucción del flujo de orina, como en un caso de litiasis). Aunque no sin excepción, la forma más sencilla de distinguir entre los tres es medir la USG. En ganado azotemico, si el USG es > 1.025, la azotemia es prerrenal; si el USG es <1,025, la azotemia es renal. En la azotemia postrenal, la orina es a menudo difícil o imposible de obtener, y el diagnóstico se basa en el examen físico. Sin embargo, uno debe evitar ser excesivamente dogmático sobre la interpretación de una única medida de la USG en ganado azotemico. En nuestra clínica, hemos visto a ganado azotemico, clínicamente deshidratados y afectados por una enfermedad primaria distinta de la enfermedad renal que tienen un USG < 1,025. Tras la resolución de la enfermedad primaria, sin embargo, no presentaban más signos de enfermedad renal. Estos animales podrían tener una enfermedad renal leve que no es clínicamente importante, o quizás una enfermedad renal hemodinámica provocado por el shock que acompañó al problema primario. Se ha visto un síndrome similar en caballos con enfermedad gastrointestinal. En cualquier caso, deberíamos ser cautelosos a la hora de diagnosticar la enfermedad renal primaria si está presente otra condición importante. La necesidad de establecer de inmediato el tratamiento en pacientes críticamente enfermos y la oliguria que acompaña a menudo la deshidratación puede llevar uno a omitir la evaluación del USG antes de comenzar la fluidoterapia. Por lo tanto, es difícil determinar el tipo de azotemia presente. Cuando esto ocurre, recomendamos la re-evaluación del SUN y/o Cr 24 horas más tarde. En nuestra experiencia, el ganado con la azotemia prerrenal eliminan la urea y la Cr rápidamente cuando se hidratan, volviendo a menudo a tener, o casi tener, el rango de referencia a los 24-48 horas si se logra una fluidoterapia apropiada y la corrección del problema primario.

La urea se forma en el hígado por la desintoxicación de amoníaco, un subproducto del metabolismo de las proteínas. Por lo tanto, la dieta y la función hepática influyen en el SUN. La urea se recicla en un rumen funcional, un proceso que puede tender a moderar el aumento del SUN en el caso de enfermedad renal y mostrar una relación SUN/Cr baja. Aunque la Cr, un producto del metabolismo energético en el músculo, puede ser muy bajo en ganado escuálido con poca masa muscular, no se suele ver tan afectado por factores externos como el SUN. Por esta razón, la Cr es la prueba preferida por delante del SUN.

Mientras que el SUN, la Cr y la USG puede identificar la enfermedad renal, el diagnóstico final no se puede obtener a partir de esta información. Por ejemplo, la toxicidad de la bellota, la pielonefritis, y la amiloidosis son enfermedades que provocan insuficiencia renal en el ganado. Estas enfermedades no se pueden distinguir uno del otro simplemente por los resultados de un perfil químico. Sin embargo, las características de la orina en cada una de estas enfermedades es muy diferente. Cuando se sospecha de enfermedad renal, debe realizarse un completo análisis de orina, así como la palpación rectal de los riñones. La ecografía y la biopsia renal también pueden proporcionar información.

Ocasionalmente es necesario confirmar el uroperitoneo mediante la medición de la creatinina en el líquido abdominal. En el uroperitoneo, el valor de la Cr en el fluido abdominal será al menos dos veces al de la Cr en suero. No se debe utilizar la urea porque la urea se mueve libremente dentro y fuera de las cavidades del cuerpo. Por lo tanto, la urea en el fluido abdominal puede no ser dos veces el valor del SUN, especialmente si el defecto en el tracto urinario es pequeño o crónico.

Un SUN alto a nivel de rebaño es un indicador del exceso de proteína degradable en rumen, que se ha visto que reduce el nivel de fertilidad. En los rebaños de vacas lecheras, un SUN medio de > 20mg/dl puede sugerir que la dieta contiene demasiada proteína y se hace necesario evaluar la ración.

ENGLISH VERSION ▾

Serum proteins, hepatic tests and renal function tests in cattle

Allen J. Roussel, Jr., DVM, MS, Diplomate, ACVIM, ECBHM

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, Texas A&M University College Station, Texas, USA

Currently, most laboratories perform serum by chemical analysis for a large number of analytes at the same time. This is cost-efficient and provides much information. However, some of the tests are useful more frequently than others. In this session, we will discuss the clinical chemistry test that I believe are the most important and the most frequently useful: the serum proteins, the liver enzymes and the renal function tests.

SERUM PROTEIN

Serum contains many different proteins, but the two components of diagnostic significance relative to the chemistry profile are albumin and globulin. Albumin is synthesized in the liver and is the protein primarily responsible for the oncotic pressure of plasma. While albumin is a relatively homogeneous entity, there are many different globulins that make up the protein fraction

we call "globulin" in this paper. A large portion of the globulin fraction is made up of immunoglobulins which are synthesized by lymphoid tissue. Most other globulins are synthesized by the liver with a small amount synthesized by other tissues. The ratio of albumin to globulin (A:G ratio) is fairly constant in healthy cattle (reference range 0.84 -0.94). Most chemistry profiles include measured albumin and total serum protein, while the value for globulin is typically derived by subtracting the former from the later. One must remember that if *plasma* is used instead of *serum,* fibrinogen will be included in the value for total protein, and hence, the derived globulin value; this may obfuscate the interpretation of the total protein and globulin. The discrepancy cannot be totally rectified by simply subtracting the value for fibrinogen, which is often determined by refractometry, from the value for plasma protein on the profile because of the difference in methods of analysis. Because most reference ranges are established for serum proteins, it is our opinion that serum is the sample of choice when evaluating the blood proteins. More specific and detailed evaluation of the globulin fraction can be achieved using electrophoresis, radial immunoassay and other methods which will not be discussed here.

Hyperproteinemia can result from an increase in albumin, globulin or both. The only cause of hyperalbuminemia is dehydration. In dehydration, both albumin and globulin rise, but whether they exceed the reference range is determined by the degree of dehydration and the original protein concentration in the serum. Hyperproteinemia without dehydration is almost always the result of hyperglobulinemia. Globulin increases substantially with age in dairy cows. The difference between two year-olds and five year-olds was about 1.5 g/dl, potentially a clinically relevant difference. Causes of hyperglobulinemia include chronic inflammatory diseases (traumatic reticuloperitonitis, liver abscess, chronic pneumonia) and hepatic disease. In chronic inflammatory disease, the A:G ratio usually decreases because of an increase in globulin which is often accompanied by a small decrease in albumin. In chronic hepatic disease, the decrease in albumin may be more substantial. Serum globulin may be one of the most overlooked values on the routine chemistry profile. Changes in the hemogram are often rather subtle and transient in inflammatory disease of cattle, compared to other species. Therefore, the evaluation of serum globulin is of great value in chronic inflammatory disease.

In mature cattle, hypoproteinemia is usually the result of hypoalbuminemia or panhypoproteinemia. Hypoalbuminemia occurs when 1) hepatic production is insufficient to meet demand, either as a result of insufficient production or increased consumption or 2) there is excessive loss of albumin. Insufficient production can occur in animals with chronic severe hepatic disease or as a result of inadequate protein intake, digestion, or absorption. Because bovine albumin has a half-life of 16.5 days and the reserve capacity of hepatic tissue is so great, liver disease must be chronic and severe to result in severe hypoalbuminemia. In the authors' experience, cattle with chronic debilitating disease of many causes may be hypoalbuminemic with low or normal total protein. If the A:G ratio is low, chronic inflammatory disease should be suspected. In acute and subacute disease, hypoalbuminemia frequently results from loss of albumin. Avenues of albumin loss include the kidney (particularly the glomerulus), the gastrointestinal tract, hemorrhage and exudation. In many instances, loss of albumin may be accompanied by loss of globulin, resulting in panhypoprotienemia.

Renal amyloidosis can result in severe albumin loss in the urine due to glomerular damage. In one report, 5 of 6 cattle with amyloidosis had hypoglobulinemia along with hypoalbuminemia. Once again, the A:G ratio proved useful for evaluating the serum proteins. The A:G ratio was <0.5 in all 6 cattle, indicating a greater loss of albumin than globulin. Panhypoproteinemia is the rule in protein-losing gastro-enteropathies such as nematode parasitism, paratuberculosis and salmonellosis. Because digestion and absorption may be impaired in these diseases, decreased production due to amino acid deficiency may contribute to the hypoproteinemia in chronic cases. Acute hemorrhage results in panhypoproteinemia accompanied by anemia.

Hypoglobulinemia is infrequent in cattle except neonates, either as a result of failure of passive transfer of maternal antibody, or severe infection when transferred antibodies are consumed rapidly prior to the efficient production of endogenous antibody by the young calf. In calves that acquire adequate passive immunity after birth, globulin concentration reaches its nadir around 2 months of age. In colostrum-deprived calves, endogenous globulin production begins immediately and results in the serum globulin concentration increasing steadily from birth.

Evaluation of patients with hypoproteinemia should include urinalysis for proteinuria and hematuria, fecal occult blood tests, liver profile, examination for parasites (internal and external) and packed cell volume or complete hemogram determination.

HEPATIC TESTS

The leakage enzymes aspartate transaminase (AST, formerly SGOT), L-iditol (formerly sorbitol) dehydrogenase (IDH), ornithine carbamoyltransferase (OCT), glutamate dehydrogenase (GDH) and lactate dehydrogenase (LDH) have been used to evaluate the liver. Of these, AST, LDH and IDH are the most popular in the United States. Both AST and LDH are found in a wide variety of tissues, the most important of which are liver and muscle. Muscle damage, especially due to recumbency in cattle, may result in marked increases of both; hence, AST and LDH should be interpreted in conjunction with a liver-specific enzyme (such as GGT), or a muscle-specific enzyme such as creatine kinase (CK) to determine the source of the tissue insult. Usually, high AST or LDH and normal CK indicates liver disease. If serum is allowed to remain on the clot too long or the sample is hemolyzed, the AST and LDH may be falsely elevated because both enzymes are found in red blood cells. Because concentrations of these enzymes are high in serum when damaged cell membranes allow their escape from hepatic cytosol, they indicate cell damage, not abnormal hepatic function. In fact, in chronic or slowly progressive hepatic disease, these enzymes may be within or below reference ranges because few hepatocytes are being damaged at one time, or because hepatocellular mass is substantially reduced. Consequently, these enzymes may be more sensitive indicators of acute disease such as some toxicities and infectious hepatitis. They may also be high in cattle with hepatic lipidosis, passive venous congestion and diseases that cause distension of the forestomachs and abomasum.

IDH is a sensitive and specific indicator of hepatocellular damage. Unfortunately, it's usefulness is limited by it's relatively instability in vitro, Because activity in serum drops significantly after only 24 hours if the specimen is refrigerated or 72 hours if frozen, transportation of specimens to the laboratory must be rapid. The serum profile of IDH following hepatocellular injury is characterized by a steep rapid ascent followed by a rapid decline, therefore, it is not useful as an indicator of chronic liver disease.

The "cholestatic", enzymes gamma glutamyltransferase (GGT) and serum alkaline phosphatase (SAP), are more sensitive to biliary obstruction caused by conditions such as fascioliasis or cholelithiasis. The cholestatic enzymes are more likely to be high in chronic hepatic disease than are the leakage enzymes because fibrosis constricts and blocks some bile ducts.

Although GGT is found in many tissues, the source of essentially all of the GGT in the serum is the biliary and hepatocellular membranes. Therefore, it is one of the most liver-specific tests available to veterinarians. Serum GGT is relatively unaffected by renal disease, though urinary GGT rises dramatically with tubular disease. Serum GGT rises principally in cholestatic disease, although hepatocellular diseases in which cholestasis is a secondary feature, also causes an increase in GGT. Because it tends to decrease less rapidly than IDH (and the other leakage enzymes), it may be of more value in identifying cattle with chronic hepatic disease. Serum GGT of pre-colostral calves is similar to that of mature cattle, but serum concentrations rise sharply following consumption of colostrum, which is rich in GGT. By 24 hours after colostral intake, serum GGT concentration is 50 to 100 times that of colostrum-deprived calves. In fact, serum GGT can be used to estimate the success of passive transfer, but not to detect hepatic disease in neonates.

Serum alkaline phosphatase, a useful indicator of hepatic or cholestatic disease of dogs, is often included in chemistry profiles of cattle. Several isoenzymes from different tissues have been identified, and almost all of the SAP in healthy cattle is of osseous origin. In cattle with hepatic disease, SAP of hepatic origin increases, but the increase is not large in magnitude. Therefore, SAP is of limited diagnostic value for hepatic disease of cattle. Interestingly, though not clearly explainable, SAP was found to be useful as a prognostic indicator in cattle with abomasal volvulus.

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin that is conjugated and excreted by the liver. Unconjugated (or direct) bilirubin is the result of rapid breakdown of hemoglobin which occurs in acute hemolysis. Conjugated (or indirect bilirubin) accumulates in plasma when there is intra- or extrahepatic biliary obstruction. The plasma concentration of bilirubin in healthy cattle is very low compared to that of the other species; and the magnitude of increase is relatively small, even in severe liver disease. Severe bilirubinemia and icterus in cattle is almost always a result of hemolysis, and hence, is primarily due to unconjugated bilirubin.

Though usually considered an index of renal function, blood or serum urea nitrogen (BUN or SUN) is also an indicator of hepatic function. In the liver, ammonia is converted to urea. In severe hepatic failure or partial vascular anomaly, SUN is low while ammonia is high. However, low SUN is not associated only with hepatic disease. Because rumen microbes use urea to synthesize protein, the rumen acts as a "sponge" for urea in cattle that are anorectic or protein-deprived.

Laboratory reference ranges for mature cattle are invalid for neonatal calves, especially those under a week of age. Neonatal calves have somewhat higher concentrations of bilirubin, AST, SAP, and SBA and markedly higher concentrations of GGT than do mature ruminants. Recently, icterus and hyperbilirubinemia associated with lack of colostral intake was described in 1- to 3- day-old bob veal calves at slaughter. Although it was not determined in this study, it is reasonable to suspect that the same phenomenon occurs in calves that are not sent to slaughter. In another recent study of 47 calves with hepatic disease, no test was sensitive enough to be used alone, leading the authors to recommend that a battery of tests be used to screen for hepatic disease of calves.

RENAL TESTS

Elimination of nitrogenous wastes, such as urea and creatinine (Cr), and concentration of urine to conserve body water are two of the many vital functions performed by the kidney. Evaluation of these functions is exploited in the diagnosis of renal disease. Serum or blood urea nitrogen (SUN or BUN) and serum creatinine (Cr) are rough indices of glomerular filtration rate. The generous reserve capacity of the kidney makes SUN and Cr insensitive indicators of renal function; 75% loss of functional renal mass is required for azotemia to occur. Slightly more sensitive than SUN and Cr, the urinary specific gravity (USG) can detect about a 67% loss of functional renal tissue. The USG is most easily estimated by refractometry. By convention, USG of > 1.025 is considered indicative of appropriate concentrating ability in the face of dehydration or azotemia. It is quite common, however, for normally hydrated cattle, especially dairy cattle, to have USG <1.025.

Azotemia, the accumulation of nitrogenous wastes in the blood, is reflected in the serum chemistry profile as high SUN and Cr. Remember - *AZOTEMIA DOES NOT EQUAL RENAL DISEASE!* Azotemia can be classified as renal (due to renal disease), prerenal (due to sluggish renal blood flow, as in shock or dehydration), or postrenal (due to obstruction of urine outflow, as in urolithiasis). Though not without exception, the simplest way to distinguish among the three is by measuring the USG. In azotemic cattle, if the USG is > 1.025, the azotemia is prerenal; if the USG is <1.025, the azotemia is renal. In postrenal azotemia, urine is often difficult or impossible to obtain, and the diagnosis is based on physical examination. However one should avoid being overly dogmatic about the interpretation of a single measurement of USG in azotemic cattle. In our clinic, we have seen cattle which are azotemic, clinically dehydrated and affected by primary disease other than renal disease have USG < 1.025. Upon resolution of the primary disorder, however, they have not had further signs of renal disease. These cattle could have mild renal disease that is not clinically important, or perhaps hemodynamic renal disease brought on by shock accompanying the primary problem. A similar syndrome has been reported in horses with gastrointestinal disease. At any rate, one should be cautious about diagnosing primary renal disease if another major condition is present. The need to immediately institute treatment in critically ill patients and the oliguria that often accompanies dehydration may cause one to omit evaluation of USG before one begins fluid therapy. Therefore it is difficult to determine the type of azotemia present. When this occurs, we recommend re-evaluation of SUN and /or Cr 24 hours later. In our experience, cattle with prerenal azotemia eliminate urea and Cr rapidly when rehydrated, often returning to or near the reference range in 24-48 hours if appropriate fluid therapy and correction of the primary problem is accomplished.

Urea is formed in the liver by the detoxification of ammonia, a by product of protein metabolism. Therefore SUN is influenced by diet and hepatic function. Urea is recycled in a functional rumen, a process which may tend to moderate the rise in SUN in renal disease and result in a low SUN/Cr ratio. Although Cr, a product of energy metabolism in muscle, can be very low in emaciated cattle with little muscle mass, it tends to be less influenced by extraneous factors than SUN. For this reason, Cr is the test of choice over SUN.

While SUN, Cr and USG can identify renal disease, the final diagnosis cannot be obtained from this information. For

example, acorn toxicity, pyelonephritis, and amyloidosis are diseases which cause renal failure in cattle. These diseases cannot be distinguished from one another simply based on the results of the chemistry profile. However, the characteristics of the urine in each of these diseases is very different. Whenever renal disease is suspected, a complete urinalysis should be performed, as well as, rectal palpation of the kidneys. Ultrasonography and renal biopsy may also be informative.

Occasionally it is necessary to confirm uroperitoneum by measuring creatinine in the abdominal fluid. In uroperitoneum the abdominal fluid Cr will be at least twice the serum Cr. Urea should not be used because urea moves freely into and out of body cavities. Therefore, abdominal fluid urea may not be twice the SUN, especially if the defect in the urinary tract is small or chronic.

Increased SUN on a herd basis is an indicator of excessive rumen-degradable protein which has been shown to reduce fertility. In dairy herds, a mean SUN > 20mg/dl may suggest that too much protein is being fed and evaluation of the ration is warranted.

PONER EN PRIMER LUGAR AL CONSUMIDOR: CLASIFICACIÓN DE CALIDAD DE CONSUMO DE CARNE DE VACUNO

Dr Rod Polkinghorne OAM

PUNTOS CLAVE

- El cliente es el rey - un enfoque basado en el consumidor es esencial para la actividad industrial.
- La descripción del producto final debe describir claramente una experiencia culinaria del consumidor
- Las especificaciones tradicionales de la cadena de suministro fija y las categorías de canales no pueden ofrecer una garantía adecuada al consumidor.
- El modelo de predicción de la Meat Standards Australia (MSA) que valora el nivel de satisfacción de los consumidores de un gran número de combinaciones de músculos - estilos de preparación, ha sido la clave para habilitar la adopción comercial
- La MSA ha creado un cambio de mentalidad en la industria de la carne de vacuno australiano, pasando del enfoque basado en el producto al enfoque basado en el consumidor
- Esto ha resultado en una mayor rentabilidad en toda la cadena de suministro y ha respaldado extensamente la marca de la empresa
- Aunque los avances han sido impresionantes, aún hay mucho potencial

INTRODUCCIÓN

Todos los ingresos de la industria de la carne de vacuno provienen de los consumidores. Los ingresos que compartimos entre los sectores industriales reflejan estrictamente el valor que los consumidores asignan a nuestro producto en relación con las alternativas. No es sólo el precio, sino el precio por la experiencia proporcionada. Si los ingresos de la industria de la carne están por debajo de un umbral deseable, debemos mirar a la oferta para encontrar una solución.

La tecnología de la MSA nos permite predecir y describir la experiencia de comer porciones de carne individuales. Si esta descripción es clara, precisa y fiable entonces el precio completo puede obtenerse ya que la oferta de valor no se confunde. Los factores de procedencia tales como el bienestar, el medio ambiente y la trazabilidad también son importantes, pero la experiencia sensorial y la manera en que cumple con las expectativas es el factor crucial para repetir la compra. Para maximizar los ingresos, toda la cadena de suministro deben centrarse en ofrecer opciones de valor coherentes, sin ambigüedades.

Los ingresos finales procedentes de la carne en canal es la suma de todas las porciones de comida derivadas de ella. La carne en canal no es un artículo uniforme y, aunque el rendimiento puede reflejarse en EUROP o en otros sistemas de clasificación de músculos y grasas, no existe una asociación entre el rendimiento de la carne en canal y la calidad de la experiencia culinaria (Bonny *et al.* 2016), ya sea en canal o a nivel de corte individual. Sin un equilibrio entre el rendimiento y la satisfacción del consumidor, los sistemas de fijación de precios tienen poca relevancia para el consumidor Esta desconexión debe abordarse para facilitar una industria rentable, en expansión y enfocada al consumidor.

El Desarrollo del Meat Standards Australia

En Australia, a finales de los años ochenta y noventa, como en muchos de los grandes países productores de carne de vacuno, el consumo de carne de vacuno per cápita y los precios recibidos estaban cayendo constantemente y la industria estaba en crisis. A principios de la década de los noventa, la Australian Meat Research Corporation dedicó fondos recaudados de la industria para llevar a cabo una investigación sustancial en los mercados nacionales y en los principales mercados de exportación, y además en la cadena de suministro en cada uno de ellos para identificar las razones del declive.

Un estudio realizado por Yann *et al.* (1993) y McKinna (1995) identificaron las preocupaciones de los consumidores, incluyendo: los riesgos para la salud que aparecieron en los medios; el conocimiento de los cortes y de la forma de preparación estaba en declive, la apariencia del producto no permitía identificar la calidad; los exigentes consumidores no disponían de tiempo y demandaban comodidad; y los productos de la competencia estaban funcionando mejor. Los consumidores estaban confundidos por las descripciones de los productos, y carecían de confianza en la selección y la preparación. No tenían confianza en una experiencia de comida de carne de vacuno, que variaba de manera inaceptable. Estos hallazgos coincidieron con investigaciones en los principales mercados de exportación.

La industria australiana desarrolló un Plan Estratégico para la industria cárnica de 5 años (Strategic Meat Industry Plan - MISP) con los objetivos principales de suministrar un producto más consistente y permitir una descripción precisa de su palatabilidad (Polkinghorne *et al.* 2008). La investigación se centró en la variación de la calidad del consumo y los sistemas potenciales para proporcionar resultados consistentes respaldados por una descripción simple y relevante del producto cocinado.

El núcleo de la investigación fue determinar en qué medida el producto variaba en relación con la diferencia de respuesta del consumidor. Tras unas considerables investigaciones iniciales, se desarrollaron protocolos muy estrictos de pruebas sensoriales utilizando consumidores inexpertos y cubriendo todos los aspectos de la recolección de productos, muestras de fabricación, preparación y formas de servir que fueron desarrollados para asegurar que cualquier diferencia de puntuación pudiera atribuirse al consumidor o la carne de vacuno. Hubo cierta aprensión científica de que los consumidores no serían lo suficientemente consistentes y que serían inferiores a grupos capacitados y a alternativas de laboratorio mas objetivos. Sin embargo, en ulteriores investigaciones se encontró, en el mejor de los casos, una mala correlación entre estas medidas y los consumidores, la fuente de todos los ingresos. Para abordar la varianza del consumidor, el protocolo requería 10 consumidores por muestra, eliminando las dos puntuaciones más altas y las dos puntuaciones más bajas.

A partir de los datos de la investigación, se desarrolló una medida de calidad de consumo (MQ4 score) que representaba la media de ternura, jugosidad, sabor y satisfacción general. Las puntuaciones de corte se determinaron separando los productos considerados insatisfactorios, bueno todos los días, mejor que todos los días, o de calidad superior. Estos se describen en más detalle por Watson *et al.* (2008a).

De los Sistemas de "Puntos Críticos de Control de Palatabilidad" a los Modelos de Predicción

El programa MSA inicial trató de utilizar los "Sistemas" de producción para segregar la carne en canal en las categorías de calidad de consumo. Esto siguió los principios de la HACCP y las especificaciones típicas de los minoristas que imponían una serie de requisitos no negociables para que una pieza en canal cumpliera con las especificaciones. En ese momento, estos requisitos se basaban normalmente en el sexo, la dentadura, y el peso en canal, y rápidamente se demostró que eran inadecuados.

Se desarrollaron Sistemas más elaborados con otros factores que incluyen el contenido de , la estimulación eléctrica, veteado, grasa de costillas, pH, osificación y envejecimiento post mortem en contra de los criterios de rendimiento definidos por el consumidor. Estos nuevamente resultaron insuficientes por dos razones principales; la tasa de fracaso y la falta de relación entre los músculos. Se encontró que cuando se utilizaron criterios suficientes y se fijaron a un nivel suficiente para alcanzar la tasa de rendimiento designado, se excluía un porcentaje muy alto de piezas en canal. Esto creó tasas de rechazo comercialmente inviables, pero a la inversa si los criterios se relajaban, se aprobaría un producto que era inaceptable.

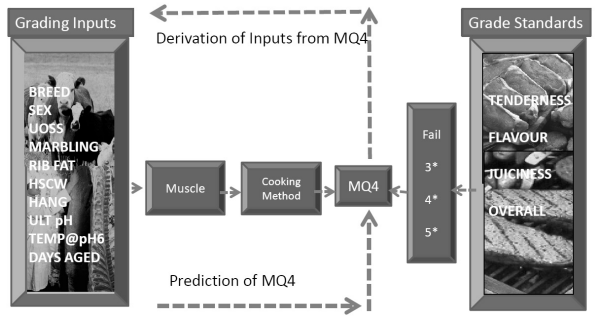
Las primeras pruebas de la MSA solamente incluía el lomo grueso a la parrilla (m.), sin embargo, el programa se amplió para incluir una amplia gama de músculos preparados utilizando una variedad de técnicas de cocción (barbacoa, carne asada, stir-fry, lentamente, maíz, de corte fino, shabu shabu y yakiniku) con muchos músculos que demostraron que funcionaban de un modo muy diferente en los métodos de cocción alternativos y con más tiempo de envejecimiento post mortem. Llegamos a la conclusión de que cualquier sistema de clasificación enfocado al consumidor tendría que referirse al corte y al método de cocción específico con nuevos ajustes para el envejecimiento.

Otra complicación fue la constatación de que no existía ninguna relación coherente entre los músculos dentro de una pieza en canal. Esto volvió a desafiar la noción tradicional de otorgar a las piezas en canal un solo grado. Claramente no se esperaba que comer una canilla fuera lo mismo que comer el solomillo, si un grado describe con precisión un lomo o costilla a la parrilla, el músculo generalmente evaluado durante la clasificación, entonces se podría hacer un ajuste razonable para otros músculos: el lomo sería mejor y la espinilla peor, por ejemplo, pero, ¿cuánto mejor o peor? La presunción era que el comprador debía saber lo suficiente acerca de los cortes para llegar a la conclusión adecuada, ¡difícilmente un simple sistema de descripción para el consumidor!

Polkinghorne (2005) informó de que las relaciones entre el músculo fueron altamente contradictorias debido a los muy diferentes efectos en los músculos individuales de varios factores, incluyendo la suspensión del canal, el envejecimiento, el veteado, % de Bos-indicus y la osificación. De hecho, cuando se evaluaron más, el músculo o el corte eran muy pobres descriptores básicos de venta al por menor debido a la extrema variedad en la calidad de consumo de cada corte.

Esto llevó a la constatación de que para ofrecer precisión y sencillez a nivel del consumidor, los cálculos de clasificación tenían que referirse a cortes específicos en lugar de la pieza en canal como un todo. Para lograr esto, se contempló un enfoque de árbol de decisión, pero pronto se volvió difícil de manejar. La solución fue el desarrollo, por el Dr. Ray Watson, de modelos de predicción estadística dentro de los cuales los efectos directos e interactivos de cada dato de la clasificación podrían modelarse dando lugar a una base muscular individual, resultando en que cada pieza en canal tenga una calificación para cada músculo x forma de cocción x días de edad. El proceso de desarrollo se describe con más detalle en Watson *et al.* (2008B) e queda ilustrado en la Figura 1, cuyo paso inicial es el desarrollo de los puntos de referencia del consumidor a partir de los datos reales del consumidor seguidos por una amplia evaluación estadística de los posibles datos de calificación y su combinación para predecir mejor el resultado del consumidor. Esa labor requiere grandes volúmenes de datos y el modelo se ha ido perfeccionando continuamente a medida que se han realizado análisis de los consumidores utilizando más de 100.000 consumidores y 700.000 muestras de carne en la última entrega del modelo.

Figura 1: Desarrollo de un modelo prescriptivo



El enfoque de predicción permitió que cada una de las entradas de calificación identificadas se combinen para que, a diferencia de los criterios de los Sistemas, una deficiencia en un rasgo, como el veteado, pueda compensarse con un cambio en otro, como la osificación o un cambio en el proceso, como la suspensión de piezas en canal tiernas o el envejecimiento posterior. Esto proporcionó una precisión mucho mayor, haciendo que un sistema de calificación enfocado en el consumidor sea una posibilidad comercial.

Las entradas de datos que se fueron útiles para permitir una predicción precisa incluyeron el músculo y el método de cocción, el peso en canal en conjunto con la osificación (una medida de madurez), sexo,% de bos-indicus, uso o no de un promotor de crecimiento hormonal, si el animal aún estaba siendo amamantado (MFV), el método de suspensión de la pieza en canal, la altura de la joroba (un reflejo del contenido de bos-indicus pero también de los Bueyes), veteado, profundidad de grasa de costilla, pH máximo y disminución del pH en relación con la temperatura y los días de envejecimiento posterior al sacrificio como se muestra en la sección de entrada de datos del modelo en la Figura 2.

Además se introdujeron algunos requisitos de mejores prácticas de cribado incluyendo la entrega directa desde la granja hasta el matadero con requisitos de que el ganado no se debe mezclar en un periodo de 2 semanas antes de su transporte y un máximo de 36 horas desde la granja hasta el sacrificio. Se exigieron más mínimos de profundidad de grasa de costilla de 3mm para ayudar a un enfriamiento uniforme e incluso un pH máximo de 5,7.

El resultado se presenta como una matriz de predicción de

la calidad de la carne (MQ4) con puntuaciones entre 1 y 100 para cada combinación de músculo y método de cocción a un número de días determinado de envejecimiento. En el ejemplo de la Figura 2, el color de la celda indica tres grados de calidad alimentaria definidos por puntuaciones MQ4, siendo los límites 5* (Premium) 77 y superior, 4* (Mejor que todos los días) 64 a 77, 3* (Bueno todos los días) 46 a 64, e Insatisfactorio por debajo de 46.

Figura 2. Ejemplo de datos de entrada y salida del modelo de predicción MSA 2009

Description	Format	Name	Input	?
Estimated % Bos Indicus	% or X if dubi	EPBI	0	
Animal Sex Type	M/F	Sex	f	
Hormone Growth Promotant	Y or T / N	HGP	n	
Milk Fed Veale	Y/N	MFV	n	
Sale Yard	Y/N	SIYrd	n	
	Y/N	RnFt	n	
Rinse/Tum	Y/N	HSCW	320	
Hot Std Carcase Weight	Weight in Kg	Hang	ad	
Hang Method	AT/TS/TL/TC/TA			
		Hump	10	
Hump Height	mm	uoss	16/1	
Ossification USDA	USDA measure	umb	400	3
Marbling USDA	USDA measure	RibFt	6	3
RibFat		LtnTnd	5.5	
Ultimate pH		Utmp	5	
Loin Temp at Grade	Metered Temp C			
Days of Ageing from Kill	Days Aged	Age	5	

Description	Format	Name	Input	?
Estimated % Bos Indicus	% or X if dubi	EPBI	0	
Animal Sex Type	M/F	Sex	f	
Hormone Growth Promotant	Y or T / N	HGP	n	
Milk Fed Veale	Y/N	MFV	n	
Sale Yard	Y/N	SIYrd	n	
	Y/N	RnFt	n	
Rinse/Tum	Y/N	HSCW	320	
Hot Std Carcase Weight	Weight in Kg	Hang	ad	
Hang Method	AT/TS/TL/TC/TA			
		Hump	10	
Hump Height	mm	uoss	16/1	
Ossification USDA	USDA measure	umb	400	3
Marbling USDA	USDA measure	RibFt	6	3
RibFat		LtnTnd	5.5	
Ultimate pH		Utmp	5	
Loin Temp at Grade	Metered Temp C			
Days of Ageing from Kill	Days Aged	Age	5	

Dry aged AT hung for Produc	
MSA 1609.4	63.29

Aged	cut	muscle	GRL	RST	SFR	TSL	YAK	SSB	SCT	CRN
		spinalis	SPN081	71	71	77	77			
		tenderloin	TDR054	68	68	68	76	72	68	
		tenderloin	TDR062	73	73	73	76	72	68	
		tenderloin	TDG062	77						
		oyster roll	CUR045	66	66	66	66	67		
		striploin	STA045	60	60	62	59	61	53	
		striploin	STP045	58	58	61	57	59	51	
		oyster blade	OYS026	71	68	75	75	75		
		blade	BLD095			46	51			
		blade	BLD096	57	51	53	62	65	59	63
		chuck tender	CTR085		53	56	61			64
		rump	RMP231	54	63	61	65	60	52	57
		rump	RMP231	57	66	64	64	68		
		rump	RMP003	62	67	70	71	73		
		rump	RMP032			68	70			
		rump	RMP087		56	61	61			59
		knuckle	KNU066	43	52	58	61	60		50
		knuckle	KNU098			57	62			60
		knuckle	KNU099	39	50	47	54	50		55
		knuckle	KNU100			54	57	55		56
		outside flat	OUT005	47	46	50	60	61	47	62	56
		outside flat	OUT029			58	60			59	
		eye round	EYE075	47	51	49	51	52		51	50
		topside	TOP001	42		54	56	60		53	
		topside	TOP033	39		55	61	61		63	
		topside	TOP073	37	46	46	56	56	48	55	
		chuck	CHK068			51	56			68	
		chuck	CHK074	53	56	65	70	62		75	
		chuck	CHK078	48	51	61	65	61	48	73	
		chuck	CHK081			64	67	63		73	
		chuck	CHK082			55	59			64	
		est flank plate	TFL031			62				62	
		flap meat	TFL032			71	63			68	
		flank steak	TFL064			65	62			64	
		rib-blade	RIB041			50					
		brisket	BRI056			48	62	57		64	42
		brisket	BRI057			48	59	53		69	
		shin	HQshin							61	
		shin	HQshin							64	
		intercostal	INT057			68					

Aplicación comercial y experiencia

Un factor crítico en el fomento de la participación de agricultores y en el mejoramiento del cumplimiento ha sido la notificación obligatoria de todos los modelos de clasificación de datos de entrada al agricultor para cada pieza en canal. Esto ha alentado rápidamente a los agricultores a evaluar por qué el ganado han fallado o ha tenido un buen rendimiento, y los pagos adicionales recibidos por el cumplimiento de la MSA a través de programas de carne de vacuno de marca, les ha alentado a cambiar la gestión y las prácticas ganaderas en muchos casos. Esto se ha promovido y ayudado en gran medida mediante comunicaciones extensivos con los productores a través de herramientas de comunicación en línea, materiales escritos, y sesiones de capacitación impartidas por personal de la MSA. Accediendo a las herramientas de la pagina web online un productor puede comparar fácilmente su veteado, peso de la pieza en canal, la osificación y otros criterios contra los de otros productores y también examinar el impacto de aumentar el veteado, la tasa de crecimiento o de peso en canal, utilizando un promotor de crecimiento o decisiones de mejoramiento.

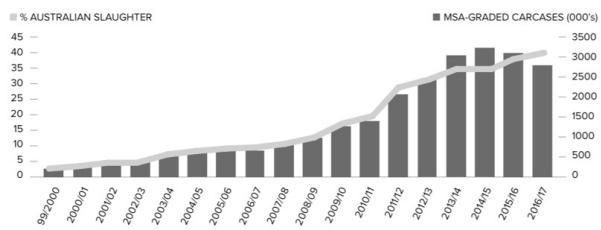
El valor de los datos del feedback para el productor se vio reforzado por la adopción por parte de la industria de la identificación electrónica de los animales individuales de por vida. Esto permitió a los sistemas de gestión del rebaño vincularse electrónicamente a los datos de clasificación por pieza en canal y por calificación a nivel de los animales individuales para el análisis y la mejora. La cooperación de la industria en la trazabilidad de los animales, el estado de los implantes y las declaraciones sobre los regímenes de alimentación y los tratamientos de salud animal han proporcionado una fuerte capacidad de exportación que puede satisfacer las demandas y deseos de los clientes globales.

Un desarrollo posterior fue la introducción de un índice MSA que proporciona un único número nominal para cada animal. El índice es esencialmente una puntuación MQ4 ponderada calculada aplicando un % fijo, basado en el estándar de rendimientos de la pieza en canal, a la puntuación MQ4 para cada músculo seleccionado para un método de cocción determinado. Se supone el estándar Achiles de colgado de la pieza en canal y 5 días de envejecimiento ya que estos ajustes están más allá del control de la granja. El índice es estándar en toda la industria y en el tiempo para permitir la comparación efectiva y la evaluación comparativa de la industria o el progreso individual.

Mientras que los productores han apoyado enérgicamente a la MSA y se ha dedicado dinero recaudado, la adopción del sistema por la industria del procesamiento y el sector minorista fue inicialmente lenta, reflejando una cautela en relación a la capacidad de predecir con precisión los resultados para consumidor y, en particular, la capacidad de conseguir precios premium. Además, muchos consideraron que el costo y la complejidad de la clasificación y la subsiguiente clasificación y gestión de la carne en canal y de los cortes, superaba a los posibles beneficios.

Tal como se ilustra en la Figura 3, los números aumentaron con el tiempo a medida que surgieron pruebas de primas y aumentaron exponencialmente a medida que los principales minoristas y procesadores de exportación adoptaron la MSA. Se desarrollaron sistemas industriales para clasificar la carne en canal sobre la base del establecimiento de unos niveles mínimos de calidad de consumo MQ4 para cortes seleccionados, permitiendo la segregación durante el deshuesado. La aceptación de la industria pasó de alrededor de 300.000 cabezas en 1999-2000 a más de 3.2 millones en 2015/16 y en 2016/17 a 2,7 millones, lo que representa el 38% y el 40% del sacrificio anual en 2015/16 y 2016/17 respectivamente (Anon, 2017a). El aumento del porcentaje de clasificación con números inferiores en 2016/17 refleja un nivel de sacrificio anual dramáticamente menor debido a la reducción del rebaño por la sequía. En la práctica, esto representa un porcentaje muy alto del ganado de calidad jóven, ya que las vacas descartadas se acercan a la mitad de los sacrificios.

Figura 3. Niveles de clasificación nacional MSA



Fuente: Anon, 2017b

El sistema es voluntario con el crecimiento impulsado por la respuesta comercial. Las primas otorgadas a los productores sobre productos no calificados se han estimado en $153 millones devueltos a la explotación agrícola en 2015/16 y mejores rendimientos en todos los sectores (Anon, 2016a). Estos resultados se interpretan como un aumento de valor al consumidor y son muy alentadores. El análisis independiente del impacto de la MSA concluyó que, de 2010 a 2015, la inversión en calidad alimentaria MLA tuvo una relación beneficio / costo de 12.5: 1 con beneficios netos de ingresos de $679 millones (Anon 2016b).

La industria se ha movido sustancialmente hacia un enfoque basado en el consumidor con productos más consistentes, agrupándolos en unas bandas de calidad alimentaria. Esto ha proporcionado una plataforma sólida para la marca de la compañía donde la base consistente de calidad de la comida

garantiza la satisfacción del consumidor y se puede aprovechar un mayor valor y diferenciación a través de la procedencia y el posicionamiento Actualmente, hay registradas 156 marcas basadas en la MSA y respaldadas por la clasificación MSA (Anon 2017a).

El futuro

La carne de vaca se ha convertido en un producto premium a un precio sustancialmente superior a la de las fuentes de proteína competidoras. Esto sólo puede continuar si los consumidores encuentran valor en la oferta. Esto requiere un producto de calidad consistente que alinea la experiencia de consumo real del consumidor con sus expectativas combinadas con la confianza en el apoyo a los sistemas de la industria tales como la seguridad alimentaria y la credibilidad ambiental y de bienestar.

Si bien la lógica de pasar de la descripción basada en cortes a un resultado centrado en el consumidor es sólida, la tradición y la cautela han limitado su adopción dejando un considerable potencial para un desarrollo ulterior. Polkinghorne *et al.* (2008b) informó de un estudio comercial piloto en el que se utilizaron datos de la MSA para entregar un producto minorista de marca descrito en su totalidad por el resultado de la cocción sin referencias al nombre del corte. El principio se presenta en la Figura 4, que muestra una matriz conceptual que podría ser traducido a un grupo de minoristas.

Figura 4 - Descripción conceptual de venta minorista orientada al consumidor

The Occasion	 Grill	Roast	 Slow Cook	 Stir Fry	 Shabu Shabu	 Yakinku
Very Special	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++
Special	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+
Good Everyday	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A

Fuente: Australian Beef Language 'White Paper', 2016

Bajo este concepto, la elección de compra se simplifica a una decisión sobre el tipo de comida para una ocasión específica, y la marca proporciona los niveles de calidad alternativos con el potencial de procedencia de la marca que completa una elección entre propuestas con valores claros (Polkinghorne 2006). La tecnología y los detalles de la entrega de una opción simple son retenidos por la industria, como debería ser.

Este concepto también es aplicable, y está listo para la adopción, en la categoría de comidas listas para comer donde una comida cocinada o lista para calentar es descrita como la comida que es en lugar de por los ingredientes. Una importante oportunidad para la industria y un reto para el status quo es extender la clasificación de calidad alimentaria a los cortes secundarios tradicionales para separar estos cortes en unos niveles de calidad consistentes y mejorar la calidad de consumo inherente de un producto insatisfactorio mediante procesos de valor agregado. Esto se está realizando actualmente con sistemas EQ personalizados que se están desarrollado en Australia, Nueva Zelanda, Polonia y otros lugares.

La carne de vacuno es un mercado global y, al igual que las crisis como BSE o E157 reducen la demanda internacional, las experiencias de alimentación mejorada y consistente pueden hacer crecer la demanda. Se ha demostrado que la respuesta del consumidor es similar en todas las regiones por trabajos hechos con protocolos comunes en Corea del Sur (Thompson *et al.* 2008), Irlanda del Norte (Farmer *et al.* 2010), Japón (Polkinghorne *et al.* 2014), Francia (Legrand *et al* 2013), Sudáfrica (Thompson *et al.* 2010), ESTADOS UNIDOS (Polkinghorne, 2007) y Polonia (Wierzbicki, datos inéditos). En reconocimiento a esto, la Fundación de investigación internacional de carne 3G se ha establecido para facilitar el intercambio colaborativo de datos globales de investigación sobre la calidad de la alimentación mediante el establecimiento de un banco de datos mundial (Farmer *et al.* 2017) utilizando los protocolos comunes de entrada e investigación bajo la Comisión Económica de las Naciones Unidas para Europa (CEPE). Hay un considerable beneficio mutuo en un conocimiento considerable en un conocimiento compartido de las poblaciones de consumidores y en un producto de calidad consistente identificado de forma fiable que puede resultar de la implementación de la clasificación basada en el consumidor.

CONCLUSIÓN

Un factor crítico de éxito en el sector de la carne de ternera es que el grado de clasificación refleje la experiencia sensorial del consumidor. Un sistema de clasificación debe transmitir un resultado simple y claro al consumidor que no requiera conocimiento o información adicional.. Si se consigue esto la carne de ternera puede competir en el sector de alimentación como un producto de consumo contemporáneo. Una sola clasificación aplicada a una carcasa entera no puede ofrecer este resultado, ni la descripción tradicional de minoristas basada en nombres de cortes tampoco. Los sistemas de calidad de consumo como el programa MSA de Australia, la Silverfern Farms EQS de Nueva Zelanda, y la futura aplicación del modelo polaco pueden conseguir este resultado.

El factor de restricción ya no es la tecnología o la capacidad, sino más bien la cultura de la industria. Los sistemas de calidad de consumo integrada enlazan directamente con el valor del consumidor al transmitir señales de mercado precisas y transparentes a través de la cadena de suministro. Estos sistemas sustentan el desarrollo de marcas orientadas al consumidor con valor basado en los pagos basados en el rendimiento y la precisión de los datos de calidad de consumo que aporta valor a todos los puntos de transición de la cadena de suministro. Dicho entorno impulsará las mejoras en la eficiencia en los sectores de producción y en los procesadores y, la mejora de la experiencia del cliente y resultará en una industria relevante, rentable, y enfocada al consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

- Anon. 2016a. Meat Standards Australia, Annual Outcomes Report 2015–16, Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Anon. 2016b. Meat and Livestock Australia, An overview of the Impact Assessment of MLA expenditure 2010-11 to 2014-15. A paper submitted to Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Anon. 2017a. Australian Beef Eating Quality Insights 2017. Meat & Livestock Australia
- Anon. 2017b. Meat Standards Australia, Annual Outcomes Report 2016-17, Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Biddle, R., Pattinson, R., Philpott, J., Polkinghorne, R., Thompson, J., Troja, P. and Williams, S. 2016. Lenguaje de la carne de tenera Australiana 'Libro Blanco', 2016 A paper submitted to Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Bonny, S., Pethick, D., Legrand, I., Wierzbicki, J., Allen, P., Farmer, LJ, Polkinghorne, R., Hocquette, J-F. and Gardner,

G. 2016. La conformación europea y las puntuaciones de grasa no tienen relación con la calidad de la comida. Animal 10, 996-1006

- Farmer, L.J., Devlin, D.J., Gault, N.F.S., Gordon, A.W., Moss, B.W. and Polkinghorne, R.J., Thompson J.M., Tolland E.L.C., Tollerton I.J. and Watson R. 2010. Adaptation of Meat Standards Australia Quality System for Northern Irish Beef. Advances in Animal Biosciences 1: 127
- Farmer, L., Straif, K., De Smet, S., Russo, V., Roehe, R., Moloney, A., Hocquette, J.F., Farrell, D., Polkinghorne, R., Wierzbicki, J., Searchinger, T., Zhang, D., Capri, E., Ferrari, P., Birnie, J., Viganò, V., Mcdonnell, C., Hadley, P., Hagan, T., Troy, D. 2017. Report of the workshop: Sustainable beef quality for Europe II – A workshop for industry and scientists
- Legrand, I., Hocquette, J. F., Polkinghorne, R. J., Pethick, D. W. 2013. Prediction of beef eating quality in France using the Meat Standards Australia system. Animal 7(03): 524-529.
- McKinna, D. 1995. Product description and labelling system research summary. Meat Research Corporation Project 360. Meat and Livestock Australia, Sydney
- Polkinghorne, R. 2005. Does variation between muscles in sensory traits preclude carcass grading as a useful tool for consumers? In Proceedings of the 51st International Congress of Meat Science and Technology, Baltimore
- Polkinghorne, R. 2006. 'Implementing a Palatability Assured Critical Control Point (PACCP) approach to satisfy consumer demands'. In Proceedings of the 52nd International Congress of Meat Science and Technology, Dublin
- Polkinghorne, R. 2007. Targeting the Consumer Demand for Beef in Australia, Japan, Korea, Ireland and the United States. In proceedings of the 60th Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association, South Dakota State University, Brookings, USA
- Polkinghorne, R., Thompson J.M., Watson R., Gee A. and Porter M. 2008. Evolution of the Meat Standards Australia (MSA) beef grading system. Australian Journal of Experimental Agriculture 48: 1351-1359
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008b. Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1451-1458
- Polkinghorne, R.J., Nishimura, T., Neath, K.E. and Watson, R. 2014. A comparison of Japanese and Australian consumers' sensory perceptions of beef. Journal of Animal Science 85 (1): 69-74
- Thompson, J. M., Polkinghorne, R., Hwang, I. H., Gee, A. M., Cho, S. H., Park, B. Y. and Lee, J. M. 2008. Beef quality grades as determined by Korean and Australian consumers. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48, (11): 1380-1386
- Thompson, J.M., Polkinghorne, R., Gee, A., Motiang, D., Strydom, P., Mashau, M., Ng'ambi, J., deKock, R. and Burrow, H.M. 2010. Can we segment the South African beef market for palatability? ACIAR Project LPS/2008/013 Final Report
- Watson, R., Polkinghorne, R. and Thompson, J. M. 2008a. Development of the Meat Standards Australia (MSA) prediction model for beef palatability. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1368-1379
- Watson, R., Gee, A., Polkinghorne, R. and Porter, M. 2008b. Consumer assessment of eating quality and development of protocols for Meat Standards Australia (MSA) testing. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1360-1367
- Yann, M., Campbell, A., Hoare, W., Wheeler, A. 1993. The role of nutrition in the consumption of red meat. Australian Meat and Livestock Corporation, Sydney

ENGLISH VERSION

Putting the consumer first – Beef eating quality grading

Dr Rod Polkinghorne OAM

KEY POINTS

- The customer is king - a consumer focus is essential to align industry activity
- Final product description needs to clearly describe a consumer meal experience
- Traditional fixed supply chain specifications and carcase grades cannot deliver an adequate consumer guarantee
- The Meat Standards Australia (MSA) prediction model that estimates consumer satisfaction for an extensive number of muscle x cooking style combinations, has been the key to enable commercial adoption
- MSA has created a culture shift in the Australian beef industry from commodity driven to consumer focussed
- This has delivered increased returns across the supply chain and underpinned extensive company branding
- While progress has been impressive there is much further potential

INTRODUCTION

All beef industry revenue comes from consumers. The revenue we share between industry sectors strictly reflects the value consumers place on our product relative to alternatives. It is not price alone, but price for the experience delivered. If beef industry revenue is below a desirable threshold we must look to the offer delivered to find a solution.

MSA technology allows us to predict and describe the eating experience for individual beef meal portions. If this description is clear, accurate and trusted then full price can be obtained as the value offer is not confused. Provenance factors such as welfare, environment and traceability are also important, but the sensory experience and how well it matches expectations is the crucial driver of repeat purchase. To maximise revenue the entire supply chain must focus on delivering consistent, unambiguous value choices.

Ultimate revenue from a carcase is the sum of all meal portions derived from it. A carcase is not a uniform item and, while yield may be reflected in EUROP or other muscle and fat classification systems, there is no association between carcase yield and eating quality (Bonny *et al.* 2016), either at carcase or individual cut level. Without a balance between yield and consumer satisfaction, pricing systems have little consumer relevance. This disconnect must be addressed to facilitate a profitable, expanding, consumer focussed industry.

The Development of Meat Standards Australia

In Australia in the late 1980s and 1990s, as in many large beef producing countries, beef consumption per capita and prices received were falling steadily and the industry was in crisis. In the early 1990s the Australian Meat Research Corporation used industry levy funds to undertake substantial research in the domestic and principal export markets and across the supply chain in each to identify the reasons for the decline.

Work done by Yann *et al.* (1993) and McKinna (1995) identified consumer concerns including: health risks which had received strong publicity; knowledge of cuts and cooking was declining, product appearance failed to identify quality; consumers were time-poor and demanding convenience; and competing products were performing better. Consumers were confused by the product descriptions and lacked confidence in selection and cooking. They had no confidence in a beef meal experience, which varied unacceptably. These findings were consistent with research in major export markets.

The Australian industry developed a 5-year Strategic Meat Industry Plan (MISP) with the central imperatives of supplying a more consistent product and enabling accurate description of palatability (Polkinghorne *et al.* 2008). The research centred on eating quality variation and potential systems to provide consistent results supported by simple and meal relevant description.

Core to the research was establishing to what extent the product varied relative to how much consumer response differed. After considerable initial research, very strict protocols for sensory testing using untrained consumers and covering all facets of product collection, sample fabrication, cooking and serving were developed to ensure that any scoring difference could be attributed to either the consumer or the beef. There was some scientific apprehension that consumers would not be sufficiently consistent and inferior to trained panel or objective laboratory alternatives. However further research found only poor correlation at best between these measures and consumers, the source of all revenue. To address consumer variance the protocol called for 10 consumers per sample with the two highest and two lowest scores clipped.

From the research data a composite eating quality (MQ4 score) was developed representing weightings for tenderness, juiciness, flavour and overall satisfaction. Cut off scores were determined separating product deemed to be unsatisfactory, good everyday, better than everyday or premium quality. These are described in more detail by Watson *et al.* (2008a).

From 'Palatability Critical Control Points' Pathways to Prediction Models

The initial MSA program sought to utilise production "Pathways" to segregate carcasses into eating quality categories. This followed HACCP principles and typical retailer specifications which imposed a series of non-negotiable requirements for a carcase to meet the specification. At the time these were typically based on sex, dentition and carcase weight and were quickly demonstrated to be inadequate.

More elaborate Pathways were developed with further factors including content, electrical stimulation, marbling, rib fat, pH, ossification and post mortem ageing tested against defined consumer measured performance criteria. These again proved inadequate for two principal reasons; the failure rate and a lack of relationship between muscles. It was found that when sufficient criteria were utilised and set at a level sufficient to achieve the designated performance rate a very high percentage of carcasses were excluded. This created commercially unviable failure rates but conversely if the criteria were relaxed more unacceptable product would be passed.

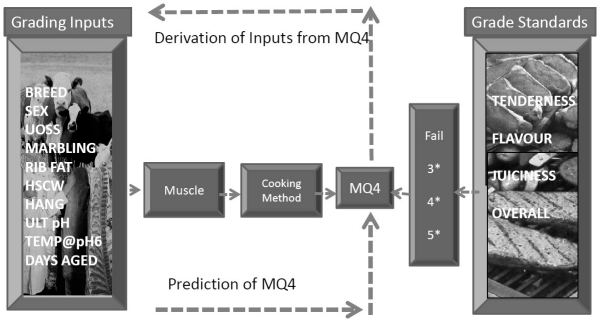
The initial MSA trial work addressed only grilled striploins (), however the program was expanded to include a range of muscles prepared by a variety of different cooking techniques (grill, roast, stir-fry, slow-cook, corn, thin-slice, shabu shabu and yakiniku) with many muscles found to perform very differently under alternative cooking methods and further with ageing time post mortem. We concluded that any consumer focussed grading system would need to relate to cut and specific cooking method with further adjustments for ageing.

Another complication was the realisation that there was no consistent relationship between muscles within a carcase. This again challenged the traditional notion of awarding carcasses a single grade. Clearly the shin was not expected to eat the same as the tenderloin but the latent assumption was that if a grade accurately described a grilled striploin or rib-eye, the muscle generally assessed during grading, then a sensible adjustment could be made for other muscles – the tenderloin would be better and the shin worse for example, but, how much better or worse? The presumption being that the purchaser should know enough about cuts to make the appropriate adjustment, hardly a simple consumer description system!

Polkinghorne (2005) reported that between muscle relationships were highly inconsistent due to different factors including carcase suspension, ageing, marbling, bos-indicus% and ossification having very different impact on individual muscles. In fact when evaluated further muscle or cut are very poor basic retail descriptors due to the extreme range in eating quality found within each cut.

This again resulted in the realisation that to deliver accuracy and simplicity at consumer level grading calculations needed to relate to specific cuts rather than the carcase as a whole. To achieve this a decision tree approach was contemplated but soon became unwieldy. The solution was the development by Dr Ray Watson of statistical prediction models within which the direct and interactive effects of each potential grading input could be modelled on an individual muscle basis resulting in each carcase in effect having a grade for each muscle x cook x days aged possibility. The development process is further described in Watson *et al.* (2008b) and illustrated in Figure 1 with the initial step being development of the consumer benchmarks from actual consumer data followed by extensive statistical evaluation of possible grading inputs and their combination to best predict the consumer outcome. Such work requires large data and the model has been continually refined as consumer testing has proceeded to where over 100,000 consumers and 700,000 meat samples have been utilised in the latest model release.

Figure 1: Prediction model development



The prediction approach enabled each of the identified grading inputs to be combined so that, unlike the Pathways criteria, a deficiency in one trait, say marbling, could be offset by a change in another, such as ossification, or through a change in process such as tenderstretch carcase suspension or further ageing. This delivered far greater precision making a consumer focussed grading system a commercial possibility.

Inputs that were found to be useful in enabling accurate prediction included the muscle and cooking method, carcase weight in conjunction with ossification (a measure of maturity), sex, %, use or not of a hormonal growth promotant, whether the animal was still suckling (MFV), the carcase suspension method, carcase hump height (a reflection of bos-indicus content but also of bull sex), marbling, rib fat depth, ultimate pH and the pH decline in relation to temperature and the days of ageing post slaughter as shown in the model input section within Figure 2.

In addition some best practice screening requirements were introduced including direct delivery from farm to slaughter with requirements that cattle not be mixed within 2 weeks of despatch and a maximum of 36 hours from farm to slaughter. Further minimums of a rib fat depth of 3mm to assist in even chilling and a maximum pH of 5.7 were mandated.

The output is presented as a matrix of predicted meat quality (MQ4) scores between 1 and 100 for each muscle x cooking method combination at a set days ageing. In the Figure 2 example the cell colour indicates three eating quality grades defined by MQ4 scores, the boundaries being 5* (Premium) 77 and above, 4* (Better than Everyday) 64 to 77, 3 * (Good Everyday) 46 to 64 and Unsatisfactory below 46.

Figure 2. Input and output example from MSA 2009 prediction model

Description	Format	Name	Input	?
Estimated % Bos Indicus	% or Y if Known	EPBI	n	
Animal Sex Type	M/F	Sex	F	
Hormone Growth Promotant	Y or T / N	HGP	n	
Milk/Fed/weiler	Y/N	MFV	n	
Sale/Yard	Y/N	SIYrd	n	
Rinse/Flush	Y/N	RnFl	n	
Hot Std Carcase Weight	Weight in Kg	HSCW	320	
Hang/Method	AITS/TL/TG/S	Hang	at	
Hump Height	mm	Hump	10	
Oss/Ruction USDA	USDA measure	uoss	160	
Marbling USDA	USDA measure	umh	400	?
Rib Fat	mm	RbFt	5	?
Ultimate pH	x	UpH	5.5	
Loin Temp at Grade	Metered Temp C	tHmn	5	
Days of Ageing from Kill	Days Aged	Age	5	

Beef aged AT living for Provider
MSA INDEX 61.25

cut	muscle	GRL	RST	SFR	TSL	YAK	SSB	SCT	CRN
	spinalis	SPN081	68	74	84	86	84		
	tenderloin	TDR034	54		78				
	tenderloin	TDR062	73	77	81	76	72	68	
	tenderloin	TDG044	77						
	cube roll	CUB045	66	66	66	66	67		
	striploin	STA045	60	60	62	59	61	53	
	striploin	STP045	68	68	61	57	69	51	
oyster blade		OYS036	71	68	75	75	75		
	blade	BLD095			46	61			
	blade	BLD096	57	61	63	62	65	50	63
shucktender		CTR085		53	56	61			64
	rump	RMP231	54	63	61	65	60	52	57
	rump	RMP231	57	66	64	64	68		
	rump	RMP005	62	67	70	71	73		
	rump	RMP032			68	70			
	rump	RMP087		56	61	61			59
	knuckle	KNU066	49	63	58	61	60		60
	knuckle	KNU098			57	62			60
	knuckle	KNU099	38	50	47	54	50		55
	knuckle	KNU100			64	67	65		68
outside flat		OUT005	47	46	50	60	61	47	62	56
outside flat		OUT029			58	65			59	
eye round		EYE075	47	51	49	51	52		51	50
topside		TOP001	42		54	56	60		53	
topside		TOP033	39		55	61	61		63	
topside		TOP073	37	46	46	56	56	48	55	
chuck		CHK068			51	56			68	
chuck		CHK074	63	68	65	70	62		75	
chuck		CHK078	58	61	61	65	61	48	73	
chuck		CHK081			64	67	63		70	
chuck		CHK082			55	59				
ext flank plate		TFL051			62				62	
flap meat		TFL052			71	63			68	
flank steak		TFL064			65	62			64	
rib-blade		RIB041			50					
brisket		BRI056			48	52	57		64	42
brisket		BRI057			48	53	53		69	
shin		FQShin							61	
shin		HQShin							64	
interostal		INT037			59					

Commercial implementation and experience

A critical factor in encouraging farmer involvement and improved compliance has been the mandatory reporting of all model grading inputs to the farmer for every carcase. This has quickly encouraged farmers to evaluate why cattle have failed or performed well and with additional payments received for MSA compliance through branded beef programmes, to change management and breeding practices in many cases. This has been encouraged and greatly assisted by extensive producer communication through on line tools, written material and training sessions by MSA staff. By accessing on line website tools a producer can readily benchmark his marbling, carcase weight, ossification and other criteria against other producers and also examine the impact of increasing marbling, growth rate or carcase weight, using a growth promotant or of breeding decisions.

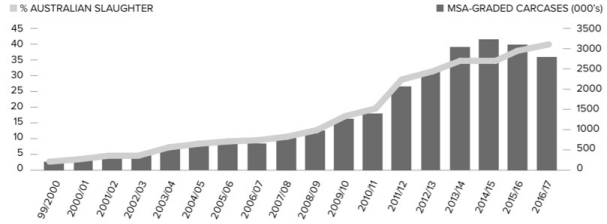
The value of the feedback data to the producer was enhanced by industry adoption of mandatory lifetime electronic individual animal identification. This enabled herd management systems to be linked electronically to carcass and grading data at individual animal level for analysis and improvement. Across industry cooperation in animal traceability, implant status and declarations regarding feed regimes and animal health treatments has provided a strong export capability that is able to meet the demands and desires of global customers.

A later development was the introduction of an MSA index which provides a single number rating for each animal. The index is essentially a weighted MQ4 score calculated by applying a fixed %, based on standard carcase yields, to the MQ4 score for each muscle by a selected cooking method. A standard Achilles hung carcase and 5 days ageing is assumed as these adjustments are beyond farm control. The index is standard across the industry and across time to enable effective comparison and benchmarking of industry or individual progress.

While producers have strongly supported MSA and committed significant levy funds, adoption by the processing and retail sector was initially slow, reflecting caution as to the ability to predict consumer results accurately and in particular the ability to capture premium pricing. Further, many considered the cost and complexity of grading and subsequent carcase and cut sorting and management to outweigh possible benefits.

As illustrated by Figure 3 graded numbers increased over time as evidence of premiums emerged and exponentially increased as major retailers and export processors adopted MSA. Industry systems were developed to sort carcasses based on setting minimum eating quality MQ4 levels for selected cuts enabling segregation into boning runs. Industry uptake progressed from around 300,000 head in 1999/00 to over 3.2 million in 2015/16 and 2.7 million in 2016/17, representing 38% and 40% of the annual kill in 2015/16 and 2016/17 respectively (Anon, 2017a). The increased grading % with lower numbers in 2016/17 reflects a dramatically lower annual kill due to drought induced herd reduction. In practise this represents a very high percentage of young quality cattle as cull cows are close to half of kill numbers.

Figure 3. National MSA grading numbers



Source: Anon, 2017b

The system is voluntary with growth driven by commercial response. Premiums to producers over non-graded product have been estimated at $153 million returned to the farm gate in 2015/16 and improved returns across all sectors (Anon, 2016a). These results are interpreted as an increase in consumer value and are most encouraging. Independent analysis of the impact of MSA concluded that from 2010-2015 the MLA's eating quality investment had a benefit to cost ratio of 12.5:1 with net income benefits of $679million (Anon 2016b).

The industry has moved substantially toward a consumer focus with more consistent product from grouping within eating quality bands. This has provided a solid platform for company branding where the consistent eating quality base guarantees consumer satisfaction and further value and differentiation can be leveraged through provenance and emotional positioning. 156 MSA based brands are currently registered and underpinned by MSA grading (Anon 2017a).

The Future

Beef has become a premium product priced substantially above competing proteins. This can only continue if consumers find value in the offer. This requires a consistent quality product which aligns a consumer's actual eating experience with their expectations combined with confidence in supporting industry systems such as food safety and environmental and welfare credibility.

While the logic of moving from cut based description to a consumer focused outcome is strong, tradition and caution have constrained broad adoption leaving considerable potential for further development. Polkinghorne *et al.* (2008b) reported a pilot commercial study where MSA data was utilised to deliver a branded retail product described entirely by meal outcome without reference to cut name. The principle is presented in Figure 4 which displays a conceptual matrix that might be translated to a retail cabinet.

Figure 4 - Conceptual consumer oriented retail description

The Occasion	Grill	Roast	Slow Cook	Stir Fry	Shabu Shabu	Yakinku
Very Special	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++	Brand A++
Special	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+	Brand A+
Good Everyday	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A	Brand A

Source: Australian Beef Language 'White Paper', 2016

Under this concept purchasing choice is simplified to a decision on meal type for a specific occasion with branding delivering the alternative quality levels with potential brand provenance rounding out a choice between clear value propositions (Polkinghorne 2006). The enabling technology and detail of delivering a simple choice is retained by industry, as it should be.

This concept is also applicable, and ripe for adoption, in the ready to eat meal category where a cooked or ready to heat meal is described by meal rather than ingredient. A significant industry opportunity, and challenge to the status quo, is to extend eating quality categorisation to traditional secondary cuts, to segregate these cuts into consistent defined quality levels and to raise the inherent eating quality of unsatisfactory product by value adding processes. This is currently underway with customized EQ systems being developed in Australia, New Zealand, Poland and further afield.

Beef is a global market and just as crises such as BSE or E157 reduce demand internationally, improved and consistent eating experiences can grow demand. It has been shown that consumer response is similar across regions by work under common protocols in South Korea (Thompson *et al.* 2008), Northern Ireland (Farmer *et al.* 2010), Japan (Polkinghorne *et al.* 2014), France (Legrand *et al* 2013), South Africa (Thompson *et al.* 2010), USA (Polkinghorne 2007) and Poland (Wierzbicki, unpublished data). In recognition of this, the International Meat Research 3G Foundation has been established to facilitate collaborative sharing of global eating quality research data through establishment of a global DATAbank (Farmer *et al.* 2017) using common input and research protocols under the United Nations Economic Commission for Europe (UNECE). There is considerable mutual benefit in a shared knowledge of consumer populations and in reliably identified consistent quality product that can result from the implementation of consumer based grading.

CONCLUSION

A critical success factor in beef grading is that the grade accurately reflects a consumer sensory experience. A grading system must convey a clear simple cooked result to a consumer which does not require additional consumer knowledge or information. If this is delivered beef can compete in the food sector as a contemporary consumer product. A single grade applied to an entire carcass cannot deliver this outcome, nor can the traditional retail description based on cut names. Eating Quality systems such as Australia's MSA program, New Zealand's Silverfern Farms EQS and the prospective Polish model application do deliver this outcome.

The constraining factor is no longer technology or capability but rather industry culture. Integrated eating quality systems link directly to consumer value relaying accurate and transparent market signals through the supply chain. These systems underpin the development of consumer driven brands with value based payments based on accurate yield and eating quality data delivering value to all supply chain transaction points. Such an environment will drive efficiency improvements in the production and processor sectors, improved customer experiences and a relevant, profitable, consumer focussed industry.

REFERENCES

- Anon. 2016a. Meat Standards Australia, Annual Outcomes Report 2015–16, Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Anon. 2016b. Meat and Livestock Australia, An overview of the Impact Assessment of MLA expenditure 2010-11 to 2014-15. A paper submitted to Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Anon. 2017a. Australian Beef Eating Quality Insights 2017. Meat & Livestock Australia
- Anon. 2017b. Meat Standards Australia, Annual Outcomes Report 2016–17, Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Biddle, R., Pattinson, R., Philpott, J., Polkinghorne, R., Thompson, J., Troja, P. and Williams, S. 2016. Australian Beef Language White paper. A paper submitted to Meat and Livestock Australia, Sydney, NSW
- Bonny, S., Pethick, D., Legrand, I., Wierzbicki, J., Allen, P., Farmer, LJ, Polkinghorne, R., Hocquette, J-F. and Gardner, G. 2016. European conformation and fat scores have no relationship with eating quality. Animal 10, 996–1006
- Farmer, L.J., Devlin, D.J., Gault, N.F.S., Gordon, A.W., Moss,

B.W. and Polkinghorne, R.J., Thompson J.M., Tolland E.L.C., Tollerton I.J. and Watson R. 2010. Adaptation of Meat Standards Australia Quality System for Northern Irish Beef. Advances in Animal Biosciences 1: 127

- Farmer, L., Straif, K., De Smet, S., Russo, V., Roehe, R., Moloney, A., Hocquette, J.F., Farrell, D., Polkinghorne, R., Wierzbicki, J., Searchinger, T., Zhang, D., Capri, E., Ferrari, P., Birnie, J., Viganò, V., Mcdonnell, C., Hadley, P., Hagan, T., Troy, D. 2017. Report of the workshop: Sustainable beef quality for Europe II – A workshop for industry and scientists
- Legrand, I., Hocquette, J. F., Polkinghorne, R. J., Pethick, D. W. 2013. Prediction of beef eating quality in France using the Meat Standards Australia system. Animal 7(03): 524-529.
- McKinna, D. 1995. Product description and labelling system research summary. Meat Research Corporation Project 360. Meat and Livestock Australia, Sydney
- Polkinghorne, R. 2005. Does variation between muscles in sensory traits preclude carcass grading as a useful tool for consumers? In Proceedings of the 51st International Congress of Meat Science and Technology, Baltimore
- Polkinghorne, R. 2006. 'Implementing a Palatability Assured Critical Control Point (PACCP) approach to satisfy consumer demands'. In Proceedings of the 52nd International Congress of Meat Science and Technology, Dublin
- Polkinghorne, R. 2007. Targeting the Consumer Demand for Beef in Australia, Japan, Korea, Ireland and the United States. In proceedings of the 60th Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association, South Dakota State University, Brookings, USA
- Polkinghorne, R., Thompson J.M., Watson R., Gee A. and Porter M. 2008. Evolution of the Meat Standards Australia (MSA) beef grading system. Australian Journal of Experimental Agriculture 48: 1351-1359
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008b. Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1451-1458
- Polkinghorne, R.J., Nishimura, T., Neath, K.E. and Watson, R. 2014. A comparison of Japanese and Australian consumers' sensory perceptions of beef. Journal of Animal Science 85 (1): 69-74
- Thompson, J. M., Polkinghorne, R., Hwang, I. H., Gee, A. M., Cho, S. H., Park, B. Y. and Lee, J. M. 2008. Beef quality grades as determined by Korean and Australian consumers. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48, (11): 1380-1386
- Thompson, J.M., Polkinghorne, R., Gee, A., Motiang, D., Strydom, P., Mashau, M., Ng'ambi, J., deKock, R. and Burrow, H.M. 2010. Can we segment the South African beef market for palatability? ACIAR Project LPS/2008/013 Final Report
- Watson, R., Polkinghorne, R. and Thompson, J. M. 2008a. Development of the Meat Standards Australia (MSA) prediction model for beef palatability. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1368-1379
- Watson, R., Gee, A., Polkinghorne, R. and Porter, M. 2008b. Consumer assessment of eating quality and development of protocols for Meat Standards Australia (MSA) testing. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1360-1367
- Yann, M., Campbell, A., Hoare, W., Wheeler, A. 1993. The role of nutrition in the consumption of red meat. Australian Meat and Livestock Corporation, Sydney

¿SON POSIBLES LAS ALTAS TASAS DE FECUNDIDAD EN REBAÑOS DE ALTA-PRODUCCIÓN?

P. M. Fricke, Ph.D.

Departamento de Ciencias Lácteas de la Universidad de Wisconsin-Madison

CLAVES

- El factor clave que afecta a la fecundidad en un protocolo Ovsynch es la respuesta a cada una de los tres tratamientos hormonales secuenciales que se pueden definir utilizando perfiles de progesterona.
- Las vacas con el mayor grado de fertilidad ante la IA a tiempo fijo tienen niveles medios de concentraciones de progesterona en el primer tratamiento de GnRH, altas concentraciones de progesterona en el tratamiento con $PGF_{2\alpha}$, y bajas concentraciones de progesterona en el último tratamiento de GnRH del protocolo Ovsynch.
- Las estrategias de pre-sincronizado que incluyen una combinación de GnRH y $PGF_{2\alpha}$ para controlar estrictamente la función ovárica optimizan las concentraciones de progesterona en los primeros tratamientos con GnRH y $PGF_{2\alpha}$ del protocolo Ovsynch, aumentando así la fertilidad.
- Una proporción altas de las vacas que inician un protocolo Ovsynch en un entorno de baja progesterona ovulan con el primer tratamiento de GnRH, pero no se produce la regresión luteal completa con el último tratamiento de GnRH, resultando en una disminución dramática de la fertilidad ante la IA a tiempo fijo.
- Al añadir un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ 24 horas después del primero dentro de un protocolo Ovsynch disminuye las concentraciones de progesterona en el último tratamiento de GnRH incrementando así la fertilidad, especialmente para las vacas que inician Ovsynch en un entorno de baja de progesterona.
- Una estrategia de gestión reproductivo agresiva que incorpora estos conceptos pueden resultar en una tasa anualizada de 21 días de gestación, que excede el 30% en rebaños lecheras sanas y de alta productividad.

INTRODUCCIÓN

Los dueños de explotaciones lecheras han incorporado ampliamente los protocolos de sincronización hormonal en los programas de gestión reproductiva (Caraviello *et al.*, 2006; Norman *et al.*, 2009). El impacto inicial de los protocolos IATF sobre las tasas de gestación a los 21 días en rebaños lecheros en los EEUU ha sido un aumento de la tasa de servicio de IA (Norman *et al.*, 2009); sin embargo, una comprensión más profunda de la fisiología que subyace al protocolo Ovsynch ha permitido un aumento dramático en la fertilidad de la inseminación artificial a tiempo fijo (**IATF**). Como el título de este estudio sugiere, quizás sea más apropiado a partir de ahora referirse a la última iteración de los protocolos de sincronización hormonal como programas de fertilidad para vacas lecheras en lactación.

La progesterona (**P4**) es el progestágeno más activo desde un punto de vista biológico en las vacas y se produce y secreta en la circulación principalmente por el cuerpo lúteo (***Cl***) durante el ciclo estral y la placenta durante la gestación. Gran parte de las investigaciones recientes publicadas en la literatura científica han centrado en el papel del P4, durante un protocolo Ovsynch (Figura 1) o en distintos momentos de un protocolo Ovsynch, sobre la fertilidad medido en gestaciones por inseminación artificial (**E/II**) 32 días después de la IATF. Para los propósitos de este estudio, nos referiremos al tratamiento inicial de GnRH en un protocolo Ovsynch con la aplicación de la IATF como **G1,** y al tratamiento final de GnRH en un protocolo Ovsynch precediendo inmediatamente al IATF como **G2** (Figura 1).



Figura 1. Diagrama esquemático de un protocolo Ovsynch. G1 = primer tratamiento de GnRH; F = tratamiento de prostaglandina $F_{2\alpha}$; G2 = último tratamiento de GnRH; TAI = inseminación artificial a tiempo fijo.

La respuesta a cada tratamiento durante un protocolo Ovsynch determina la fertilidad ante la IA a tiempo fijo

El efecto de la sincronización ante cada tratamiento durante un protocolo Ovsynch sobre la fecundidad en relación a la IATF se ve en un análisis llevado a cabo como parte de un experimento para comparar dos estrategias de re-sincronización (Giordano *et al.*, 2012c). Las vacas Holstein en lactación (n = 956) diagnosticadas como no preñadas fueron asignadas aleatoriamente a un protocolo Resynch Día 32 o un protocolo Doble Ovsynch Resynch. Como se esperaba, el G/IA 29 días después de la IATF fue mayor en el Doble Ovsynch que entre las vacas del Día 32 (39 vs. 30%). La velocidad de sincronización por tratamiento y el G/IA de las vacas sincronizadas y no sincronizadas fue calculada para un subconjunto de vacas (n = 433) de las que se tenía toda la información, incluida la concentración de P4 en la $PGF_{2\alpha}$, y G2, así como la respuesta ovulatoria en la G2 (Tabla 1). Las vacas se consideraban sincronizadas si tenían un alto nivel de progesterona en el momento del tratamiento con $PGF_{2\alpha}$,un bajo nivel de progesterona en la G2 y si ovularon en respuesta a la G2.

Tabla 1. La velocidad de sincronización en vacas lecheras Holstein resincronizadas utilizando un protocolo Ovsynch iniciado 32 días después de una anterior IATF (D32) o un protocolo Doble Ovsynch (DO)[1].

	Tratamiento		
	D32 % (n)	DO % (n)	*P*-valor
P4 en la PGF[2]			
Vacas con baja P4	35 (210)	17 (223)	<0.0001
G/IA para vacas con bajo P4	10 73)	5 (38)	0.44
G/IA para vacas con alto P4	36 (137)	38 (185)	0.70

P4 en G2[3]				
Vacas con alto P4	17 137)	7 (185)		0.005
G/IA para vacas con alto P4	13 (23)	8 (12)		0.68
G/IA para vacas con bajo P4	40 (114)	40 (173)		0.94
Ovulación después de la G2				
Vacas que no ovularon	7 (114)	8 (173)		0.87
G/IA para vacas que no ovularon	0 (8)	0 (13)		1.00
G/IA para vacas que si ovularon	43 (106)	43 (160)		0.97
Velocidad de sincronización				
Vacas sincronizadas	51 (210)	72 (223)		0.0001
G/IA para vacas no sincronizadas	10 (104)	5 (63)		0.27
G/IA para vacas sincronizadas	43 (106)	43 (160)		0.97

[1]Adaptado de Giordano *et al.*, 2012c.

[2]El corte entre la baja versus alta P4 fue de 1,0 ng/mL.

[3]GnRH2 = la segunda inyección de GnRH del protocolo D32 y la segunda inyección de GnRH del parte Breeding-Resynch del protocolo Doble-Ovsynch. El corte entre la baja versus alta P4 fue de 0,4 ng/mL. Las vacas se consideraban sincronizadas cuando alcanzaban un alto nivel de progesterona antes del tratamiento de PGF, bajo nivel de progesterona después del tratamiento PGF (es decir, en el G2), y respondían a la G2 ovulando un folículo.

En general, las vacas sincronizadas tenían un mayor G/IA que las vacas que no conseguían sincronizar; sin embargo, el G/IA en el caso de las vacas sincronizadas era idéntico para las vacas sometidas a ambos tratamientos. Así, el efecto del tratamiento sobre el G/IA fue debido a un mayor porcentaje de sincronización entre las vacas sometidas al Doble Ovsynch que al D32 (72 vs. 51%) principalmente debido a que un mayor número de vacas sometidas al Día 32 que al Doble Ovsynch no tenían un CL funcional a la hora del tratamiento $PGF_{2\alpha}$ del protocolo Ovsynch (35% vs. 17%) o presentaban una regresión del CL incompleta en el momento del G2 (17% vs. 7%). Llegamos a la conclusión de que la Doble Ovsynch aumentaba la fertilidad de las vacas lecheras Holstein durante un programa de resincronización principalmente por aumentar la sincronización de las vacas ante cada tratamiento del protocolo Ovsynch. Se realizó un análisis similar en otro experimento que comparaba dos protocolos Resynch (López *et al.*, 2013), y los resultados y las conclusiones fueron las mismas. El principal factor asociado con la fertilidad en relación con la IATF, independientemente de los protocolos de tratamiento comparados, fue la sincronización ante los tratamientos secuenciales durante el protocolo Ovsynch.

Efecto de la respuesta ovulatoria a la G1 sobre el G/IA

La respuesta ovulatoria a la G1 afecta a la fertilidad en relación con la IA a tiempo fijo aumentando el G/IA según aumenta la respuesta ovulatoria a la G1 (Bisinotto y Santos, 2012). Además, las concentraciones de P4 circulantes atenuaron el aumento de LH inducida por GnRH mediante un efecto inhibitorio del P4 en el eje hipotálamo/hipófisis (Giordano *et al.*, 2012a). La atenuación del aumento de la LH puede, a su vez, disminuir la respuesta ovulatoria a la G1, limitando así la fertilidad en relación de la IATF. Intentamos superar las consecuencias negativas de la inhibición del P4 sobre el aumento de LH inducida por GnRH incrementando la dosis de GnRH (200 vs. 100 µg) administrados en G1 durante un protocolo Doble Ovsynch (Giordano *et al.*, 2013). Aunque la respuesta ovulatoria fue ligeramente mayor (58%, n=325 vs. 67%, n=326), el aumento resultante en el G/IA no alcanzó una significación estadística (Giordano *et al.*, 2013).

Como el primer CL es refractaria a la $PGF_{2\alpha}$ - luteolisis inducida hasta unos 7 días después de la ovulación (Nascimento *et al.*, 2014), a menos que esté presente un CL maduro (Howard y Britt, 1990), el tratamiento con $PGF_{2\alpha}$ 5 días después de la ovulación provoca una disminución dramática en el P4, que luego se recupera lentamente a la vez que se recupera el CL (Nascimento *et al.*, 2014). Probamos un nuevo enfoque para aumentar la respuesta ovulatoria a la G1 mediante la refractariedad del primer CL a $PGF_{2\alpha}$ exógena para disminuir temporalmente la P4 en la G1, aumentando así la magnitud del aumento de LH (Carvalho *et al.*, 2015b). Las vacas Holstein en lactación (n = 800) fueron sincronizadas por primera vez mediante IATF utilizando una versión modificada del protocolo de Doble Ovsynch [protocolo Pre-Ovsynch (D0, GnRH; D7, $PGF_{2\alpha}$; D10, GnRH) seguida 7 días más tarde por un protocolo Ovsynch-56 (D0, G1, D7, $PGF_{2\alpha}$; D8, $PGF_{2\alpha}$; D9.5, GnRH)] con una IATF aproximadamente 16 horas después de G2. Las vacas fueron asignados aleatoriamente a recibir 12,5 mg de $PGF_{2\alpha}$ (media dosis de dinoprost trometamina) 2 días antes de la G1 (Bajo-P4) o servir como unidades de control sin tratar (Alto-P4). Como era de esperar, las vacas con Alto-P4 presentaron mayores concentraciones de P4 en la G1 que las vacas de Bajo-P4 vacas (3,0 vs. 1,3 ng/mL, respectivamente), y la respuesta ovulatoria a la G1 se vio incrementada dramáticamente en la vacas de Bajo P4 comparado con la vacas con Alto P4 [81,1% vs. 60,3%, respectivamente]. En general, el G/IA no varió entre los tratamientos a los 32 días después del IATF [56% vs. 53%, en el caso de Bajo P4 vs. Vacas con Alto-P4, respectivamente] o a los 67 días después de que IA [51% vs. 48%, en el caso de vacas con Bajo P4 vs. vacas con Alto-P4, respectivamente]. El aumento del G/IA en el caso de las vacas que ovularon con la G1 (16%) junto con el aumento observado en la ovulación en la G1 debido al tratamiento (21%; Bajo-P4 - Alto-P4) resultó en un esperado aumento numérico en el G/IA del 3% en el caso de las vacas de Bajo-P4 vs. vacas con Alto-P4 observadas en este experimento. Así, aunque hemos aumentado notablemente la respuesta ovulatoria en la G1 durante un protocolo Doble Ovsynch (20 puntos porcentuales), el aumento del G/IA no alcanzó significación estadística.

Para determinar el efecto de la respuesta ovulatoria a la G1 y que la presencia de un CL funcional en la G1 afectaba al G/IA, analizamos las tasas de sincronización de vacas Holstein aleatorizados en dos protocolos Resynch (Giordano *et al.*, 2012c). Independientemente del tratamiento, las vacas que ovularon con la G1 tenían un G/IA más alto cuando las vacas carecían de un CL funcional en la G1; sin embargo, no hubo variación en el G/IA basado en la respuesta ovulatoria a la G1 cuando las vacas si tenían un CL funcional en la G1 (Tabla 2). Además, las vacas con un CL funcional en la G1 tenían un mayor G/IA que las vacas que carecían de un CL funcional en la G1, independientemente de su respuesta ovulatoria a la G1. Los resultados de estos experimentos muestran que, aunque

la respuesta ovulatoria a la G1 de un protocolo Ovsynch puede afectar el G/IA con IATF, la P4 en la G1 tiene un mayor efecto sobre el G/IA que la respuesta ovulatoria a la G1.

Tabla 2. Velocidad de sincronización para las vacas lecheras Holstein resincronizadas clasificado en función de la presencia o ausencia de un CL funcional (≥0,5 ng/mL de P4) y la respuesta ovulatoria al primer tratamiento de GnRH (G1) de un protocolo Ovsynch[1].

Punto	Vacas que carecen de una CL funcional		Vacas que si tienen una CL funcional	
Ovulación en la G1	No	Sí	No	Sí
	% (n)			
Vacas en G1	10 (426)	14 (426)	54 (426)	21 (426)
G/IA	11^{b} (44)	23^{ab} (61)	32^{a} (231)	37^{a} (90)
Vacas con Baja P4 en la PGF	73^{c} (44)	18^{ab} (61)	26^{b} (231)	8^{a} (90)
Vacas con Alta P4 en la G2	17^{ab} (12)	40^{a} (50)	4^{b} (172)	8^{b} (83)
Vacas sin ov en la G2	10 (10)	0 (30)	8 (166)	9 (76)
Velocidad de sincronización	21^{c} (44)	49^{b} (61)	66^{a} (231)	77^{a} (90)

[1]Adaptado de Giordano *et al.*, 2012c.

[a,b,c]Dentro de una fila, las proporciones con diferentes superíndices varían (P < 0.01).

Efectos de la progesterona en la G1 y PGF en el G/IA

Para evaluar la conexión entre las concentraciones de P4 en cada tratamiento de un protocolo Ovsynch y el G/IA con IATF en vacas Holstein lactantes, se analizaron los datos de 7,792 vacas de 14 experimentos en los cuales se midió la P4 en los tres tratamientos hormonales durante un protocolo Ovsynch (Figura 2; Carvalho *et al.*, 2015 c). La relación entre la P4 durante el protocolo Ovsynch y el G/IA con IATF fue analizado independientemente porque la P4 no se midió en todas las vacas en todos los tratamientos hormonales durante el protocolo Ovsynch en todos los experimentos.

En la G1, las vacas (n = 6.144) fueron estratificadas en 9 categorías P4 de 0 a ≥ 7 ng/mL con incrementos de 0,5 ng/mL (Figura 2, panel superior). En general, el G/IA varió (P < 0,01) entre las categorías de P4 en la G1 habiendo un menor G/IA en las vacas con P4 < 0,5 ng/mL o P4 > 7,0 ng/mL que en el caso de las vacas con una P4 intermedia. Durante el tratamiento con $PGF_{2\alpha}$, las vacas (n = 3,383) fueron estratificadas en 9 categorías P4 de 0 a ≥ 8 ng/mL con incrementos de 1,0 ng/mL (Figura 2, panel central). En general, el G/IA varió (P < 0,01) entre las categorías de P4 con $PGF_{2\alpha}$ mostrando una disminución relativa del 51% del G/IA en las vacas con una P4 < 1,0 ng/mL, que en las vacas con una P4 > 1,0 ng/mL. Sobre la base de este gran conjunto de datos, se pudo identificar la concentraciones subóptimas de P4 en la G1 en el 26% de la vacas (G/IA menor en un 26%) y en el tratamiento $PGF_{2\alpha}$ en el 21% de las vacas (G/IA menor en un 51%).

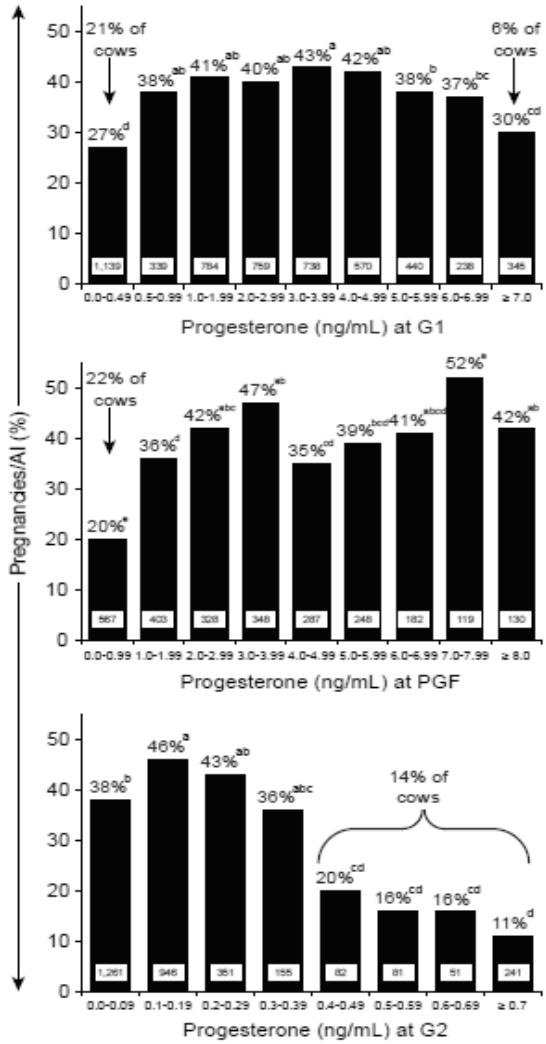


Figura 2. Los efectos de la progesterona en cada tratamiento de un protocolo Ovsynch sobre la gestación por IA en vacas Holstein lactantes. En la G1, las concentraciones de progesterona en 6.144 vacas fueron estratificadas en nueve categorías P4 de 0 a ≥ 7 ng/mL con incrementos de 0,5 ng/mL (panel superior). En la PGF2α, las concentraciones de progesterona en 3.383 vacas fueron estratificadas en nueve categorías P4 de 0 a ≥ 8 ng/mL con incrementos de 1,0 ng/mL (panel medio). En la G2, las concentraciones de progesterona en 3.148 vacas fueron estratificadas en ocho categorías P4 de 0 a ≥ 0,7 ng/mL con incrementos de 0,1 ng/mL (panel inferior). Los números dentro de las barras indican el número de vacas en cada categoría de progesterona. Adaptado de Carvalho *et al.* (2015c).

Las estrategias de presincronización antes de la iniciación de un protocolo Ovsynch en la primera IATF o IATF Resynch pueden optimizar la P4 ante la G1 y la $PGF_{2\alpha}$ en la mayoría de las vacas, resultando en un mayor G/IA que en las vacas sometidas a un protocolo Ovsynch sin presincronización. Las estrategias de presincronización probadas hasta ahora han utilizado un tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ administrado 10 días (Cartmill *et al.*, 2001) o 14 días (Silva *et al.*, 2007; Bruno *et al.*, 2013) antes de la iniciación de un protocolo Ovsynch, dos tratamientos $PGF_{2\alpha}$ administrados con una diferencia de 14 días con el segundo tratamiento administrado entre 10 y 14

días antes de la iniciación de un protocolo Ovsynch (es decir, Presynch Ovsynch; Moreira *et al.*, 2001; El-Zarkouny *et al.*, 2004; Navanukraw *et al.*, 2004; Galvão *et al.*, 2007), un solo tratamiento de GnRH 7 días antes del Ovsynch (es decir, GGPG; Giordano *et al.*, 2012b; Lopes Jr *et al.*, 2013; Bruno *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2014a), una combinación de GnRH y $PGF_{2\alpha}$ entre 6 y 7 días antes de la iniciación de un protocolo Ovsynch (es decir, G6G, Doble-Ovsynch y PG-3-G; Bello *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2008; Stevenson y Pulley, 2012). Independiente de la estrategia de presincronización probada, hubo un aumento en el G/IA cuando las concentraciones de P4 eran mayores en el momento del tratamiento $PGF_{2\alpha}$ del protocolo Ovsynch (Bello *et al.*, 2006; Bisinotto *et al.*, 2010, Denicol *et al.*, 2012, Stevenson *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2011).

El efecto de la progesterona en la G2 sobre el G/IA

Basándonos en nuestro análisis de vacas de 14 estudios diferentes en los cuales se midió la P4 en los diversos tratamientos durante un protocolo Ovsynch (Figura 2; Carvalho *et al.*, 2015c), un factor crítico asociado con el G/IA en IATF es la P4 en la G2. En la G2, las vacas (n = 3.148) fueron estratificadas en 8 categorías P4 de 0 a ≥ 0,7 ng/mL con incrementos de 0,1 ng/mL (Figura 2, panel inferior). En general, el G/IA varió (P < 0,01) entre las categorías de P4 en la G2 mostrando una disminución relativa del 66% del G/IA en las vacas con una P4 < 0,4 ng/mL, que en las vacas con una P4 > 0,4 ng/mL. Basándose en estos datos, un problema importante con los actuales protocolos de IATF es que un subconjunto de vacas no consigue revertir completamente sus CL resultando en niveles de P4 a G2 que limitan la fecundidad. No está clara la fisiología subyacente por la que este ligero aumento de los niveles de P4 en la G2 causa esta disminución de la fertilidad en la IATF. Algunas posibilidades incluyen una asociación negativa entre la P4 durante el ciclo estral y la motilidad oviductal y uterina que reduce el transporte de gametos y la tasa de fertilización (Bennett *et al.*, 1988) o la disminución del espesor uterino en la IATF asociado con una disminución de la fertilidad ante la IATF en las vacas (Souza *et al.*, 2011).

Un segundo tratamiento $PGF_{2\alpha}$ aumenta el G/IA

Basado en el análisis de los grandes conjuntos de datos de perfiles P4 durante un protocolo Ovsynch (Carvalho *et al.*, 2015c), se identificaron unas concentraciones subóptimas de P4 en la G1 en el 26% de las vacas (un 26% menos de G/IA), en la PGF en el 21% de las vacas (51% menos G/IA), y en el G2 en el 14% de las vacas (66% menos G/IA). Nuestra conclusión sobre la base de este análisis fue que el alcanzar un nivel óptimo de P4 durante un protocolo Ovsynch puede permitir un aumento espectacular de la tasa de fertilidad en vacas lecheras. Se ha asociado la regresión lútea incompleta medido como P4 ≥ 0,4 ng/mL en el G2 con una disminución del G/IA en el primer IATF y en el Resynch IATF. La disminución del G/IA asociado con la regresión luteal incompleta se manifiesta especialmente en las vacas en las cuales se inicia un protocolo Ovsynch en un entorno de baja-P4 (Giordano *et al.*, 2012c; Carvalho *et al.*, 2015b; Santos *et al.* 2015). Esto es así posiblemente porque las vacas con un CL joven (~6d) sometidas al tratamiento $PGF_{2\alpha}$ durante un protocolo Ovsynch no consiguen una regresión completa con un único tratamiento PGF2α porque algunas vacas tienen CL jóvenes que no han adquirido la capacidad luteolitica completa (Nascimento *et al.*, 2014).

Sobre la base de un análisis de los datos procedentes de un experimento en el que las vacas se resincronizaron mediante un protocolo Doble Ovsynch (Giordano *et al.*, 2012c), clasificamos las vacas en función de la edad y el número de CL presentes en el momento del tratamiento $PGF_{2\alpha}$ de un protocolo Ovsynch y evaluamos la tasa de regresión lútea completa (Tabla 3). Las vacas con un solo CL de ~13 días de edad tenían una tasa de regresión lútea del 97%, y las vacas con un CL de ~13 días de edad y un CL de ~6 días de edad tenían una tasa de regresión lútea del 92%. En contraste, las vacas con un solo CL de ~6 días de edad, solamente presentaban una tasa de regresión lútea del 64%. Las vacas que inician un protocolo Ovsynch en un entorno de baja P4 (bien anovular o cíclico y carente de CL) tienen una alta respuesta ovulatoria a la G1, resultando en un solo CL de ~6 días de edad presente en el tratamiento $PGF_{2\alpha}$ del protocolo Ovsynch. Aproximadamente un tercio de estas vacas no consiguen la regresión completa de este CL joven, resultando en niveles de P4 en la G2 ligeramente elevados, lo que supone una drástica disminución del G/IA.

Tabla 3.Los efectos de la edad y el número de CL en el último tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ durante un protocolo Doble Ovsynch en la proporción de vacas lecheras Holstein experimentando una completa regresión luteal en la G2 (P4 < 0,4 ng/mL)[1].

Edad y el número de CL en el tratamiento $PGF_{2\alpha}$	Proporción de vacas con luteolisis completa, % (n)
Día 6 CL	64 (59)
Día 6 y Día 13 CL	92 (74)
Día 13 CL	97 (166)

[1]Adaptado de Giordano *et al.*, 2012c.

Varios experimentos han evaluado el efecto de añadir un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ durante un protocolo Ovsynch para disminuir la P4 en la G2 en la fertilidad con IATF en el primer IATF y en el Resynch IATF.

Primer IATF... Las vacas Holstein lactantes fueron asignados aleatoriamente a un protocolo Doble Ovsynch (control) o a un protocolo Doble Ovsynch que incluía un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ 24 horas después del primer tratamiento (Brusveen *et al.*, 2009). Las vacas que fueron sometidas a 2 tratamientos $PGF_{2\alpha}$ durante el protocolo Ovsynch tuvieron una mayor incidencia de regresión luteal que las vacas que fueron sometidas a 1 tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ (98% vs. 86%); sin embargo, el G/IA en el primer IATF no difirió entre las vacas que recibieron 2 vs. 1 tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ (53% vs. 47%, respectivamente). Los 6 puntos porcentuales de diferencia en el G/IA se esperaban en base al incremento en 12 puntos porcentuales de la regresión luteal combinado con una tasa de concepción al IATF del 50% en este experimento. Además, el impacto fisiológico de añadir un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ durante un protocolo Doble Ovsynch puede ser limitado debido a que un protocolo de Doble Ovsynch conlleva, en la mayoría de las vacas, un CL ~13 días de edad, o un CL ~13 días de edad y un CL ~6 días de edad en el tratamiento $PGF_{2\alpha}$ y evita preparar la vacas con un CL joven ~6 días de edad en el tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ que no consiguen una regresión complete (Tabla 3).

Resynch IATF. Mientras que las estrategias de resincronización han producido importantes aumentos en el G/IA en el primer IATF, numerosos rebaños sufren de bajas niveles de fertilidad ante un protocolo Ovsynch utilizado para el Resynch IATF. En varios estudios, el 16%, 22% y 35% de las vacas diagnosticadas que no estaban en gestación a los 32 días después de una IATF y que no habían recibido un tratamiento GnRH 7 días antes del diagnóstico de gestación carecían de CL (Fricke *et al.*, 2003; Sterry *et al.*, 2006; Giordano *et al.*, 2015). Cuando las vacas fueron sincronizados para el primer IATF y se midieron los perfiles P4 y el diámetro del CL hasta un diagnóstico de gestación 32

días después, el 19% de las vacas diagnosticadas como no en gestación carecían de un CL > 10 mm de diámetro (Ricci *et al.*, 2014). Por lo tanto, hasta un tercio de las vacas que no están en gestación inician un protocolo Resynch en un entorno de baja P4 que lleva a una falta de regresión luteal y baja fertilidad ante un Resynch IATF. Llevamos a cabo un experimento para determinar si los efectos de añadir un segundo tratamiento $PGF_{2\alpha}$ a las 24 horas después del primero dentro de un protocolo Ovsynch incrementaría el G/IA ante un IATF después de un protocolo Resynch (Carvalho *et al.*, 2015a). Una proporción mayor (P< 0,01) de vacas que recibieron 1 tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ tuvo una regresión luteal incompleta (≥ 0,4 ng/mL) que las vacas que fueron sometidas a 2 tratamientos $PGF_{2\alpha}$ independientemente de las concentraciones de P4 en la G1 (Tabla 4). En el caso de las vacas con concentraciones de P4 < 1,0 ng/mL en la G1, las vacas sometidas a 2 tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ tuvieron un mayor (P = 0,03) G/IA que las vacas sometidas a 1 tratamiento de $PGF_{2\alpha}$, mientras que en el caso de las vacas con concentraciones de P4 ≥ 1,0 ng/mL en la G1, el G/IA no difirió (P = 0,46) entre las vacas sometidas a 1 vs. 2 tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ (Tabla 4).

Tabla 4. Los efectos de 1 vs. 2 tratamientos $PGF_{2\alpha}$ durante un protocolo Ovsynch sobre la regresión luteal y la gestación por IA (G/IA) en vacas lecheras Holstein con bajas vs altas concentraciones de progesterona (P4) en el primer tratamiento GnRH de un protocolo Ovsynch (G1)[1].

	Tratamiento	
Punto	1 $PGF_{2\alpha}$	2 $PGF_{2\alpha}$
	——————— % (n) ———————	
Vacas con regresión luteal completa		
Baja P4 (<1.0 ng/mL) en la G1	70[a] (76)	96[b] (74)
Alta P4 (>1.0 ng/mL) en la G1	89[a] (236)	98[b] (214)
Total	83[a] (312)	98[b] (288)
G/IA 32 días después de IATF		
Baja P4 (<1.0 ng/mL) en la G1	33[c] (107)	46[d] (110)
Alta P4 (>1.0 ng/mL) en la G1	33 (312)	37 (289)
Total	33[c] (419)	39[d] (399)

[1]Adaptado de Carvalho *et al.*, 2015a.

[a,b]Las proporciones difieren (P < 0,01).

[c,d]Las proporciones difieren (P < 0,05).

Protocolos Ovsynch de 5-d vs. 7-d

La reducción del intervalo entre el G1 y el tratamiento $PGF_{2\alpha}$ de 7 (7-d de protocolo) hasta 5 (5-d del protocolo) durante un protocolo Ovsynch fue descrita por primera vez en una serie de experimentos con vacas para carne (Bridges *et al.*, 2008). Aunque el calendario de la IA después del tratamiento $PGF_{2\alpha}$ difiere entre las vacas sometidas al protocolo de 7-d las vacas sometidas al protocolo de 5-d, un mayor número de vacas en el protocolo de 5-d entraron en gestación con una IATF que las vacas sometidas al protocolo de los 7-d en dos experimentos (80% vs. 67%, respectivamente, y 65% vs. 56%, respectivamente). En el año 2010, se comparó un protocolo Ovsynch de 5-d con un protocolo Cosynch72 de 7-d en vacas Holstein lactantes (Santos *et al.*, 2010). En ese estudio, las vacas sometidas al protocolo de 5-d recibieron dos tratamientos de $PGF_{2\alpha,}$ mientras que las vacas en el protocolo de 7-d sólo recibieron un tratamiento de $PGF_{2\alpha}$. En general, las vacas sometidas al protocolo de 5-d presentaron un G/IA más alto que las vacas sometidas al protocolo de 7-d (38% vs. 31%). Santos *et al.* (2010) llevó a cabo un análisis para buscar una diferencia en las tasas de regresión luteal entre las vacas sometidas a 1 vs. 2 tratamiento PGF2α analizando solamente las vacas con una P4 < 1 ng/mL en el día de la IA, y el G/IA también fue más alto en el caso del protocolo de 5-d que en el protocolo de 7-d (39% vs. 34%). Los autores atribuyeron este efecto del tratamiento a un periodo reducido de dominio folicular en las vacas sometidas al protocolo Ovsynch de 5-d. Colazo y Ambrose (2015) también compararon el protocolo de 5-d con dos tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ con un protocolo de 7-d con un tratamiento de $PGF_{2\alpha}$; sin embargo, el G/IA no hubo una diferencia estadística entre los tratamientos (39% vs. 34%).

Llevamos a cabo un experimento para comparar directamente el efecto de añadir un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ y el efecto de disminuir la duración del protocolo Ovsynch desde 7 a 5 días en las concentraciones de P4 y el G/IA después de la resincronización de la ovulación y la IATF (Santos *et al.*, 2015). Se asignaron aleatoriamente las vacas Holstein en lactación (n = 821) ante un diagnóstico de no gestación (d 0 = 32 d después de la IA) a uno de tres protocolos Resynch: 1) 7D1PGF (GnRH, d 0; $PGF_{2\alpha}$, d 7; GnRH, d 9,5); 2) 7D2PGF (GnRH, d 0; $PGF_{2\alpha}$, d 7; $PGF_{2\alpha}$, d 8; GnRH, d 9,5); y 3) 5D2PGF (GnRH, d 2; $PGF_{2\alpha}$, d 7; $PGF_{2\alpha}$, d 8; GnRH, d 9,5). Todas las vacas recibieron un inserto P4 intravaginal (PRID Delta; Ceva Santé Animale, Libourne, Francia) en la G1 del protocolo de resincronización que fue retirado en el primer tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ y todas las vacas fueron sometidas a la IATF aproximadamente 16 horas después de la G2.

Tabla 5. Efectos de la presencia de corpus luteum (CL) en el Día 0 en gestaciones por IA (G/IA) en vacas lecheras Holstein 32 días después de la IATF[1].

	Tratamiento			*P*-value[2]		
G/IA	7D1PGF	7D2PGF	5D2PGF	T	C1	C2
	——————— % (n) ———————					
Total	36 (266)	41 (268)	44 (265)	0.14	0.05	0.56
Vacas con CL en la G1	38 (196)	40 (191)	43 (189)	0.51	0.35	0.49
Vacas sin CL en la G1	30 (70)	46 (77)	45 (76)	0.11	0.03	0.98

[1]Adaptado de Santos *et al.*, 2015.

[2]C1: contraste pre-planeado entre tratamientos 7D1PGF (un $PGF_{2\alpha}$) y 7D2PGF + 5D2PGF (dos $PGF_{2\alpha}$); C2: contraste pre-planeado entre tratamientos 7D2PGF (protocolo de 7-d) y 5D2PGF (protocolo de 5-d).

En general, no hubo ningún efecto del tratamiento sobre el G/IA (Tabla 5). Cuando los datos se analizaron basado en la presencia o ausencia de un CL en el G1, las vacas que carecían de un CL y que fueron sometidas a dos tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ tenían un G/IA mayor (P = 0.03) que las vacas sometidas a un tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ independientemente de la duración del protocolo, mientras que no se observó ningún efecto del tratamiento en las vacas que tenían un CL en la G1 (Tabla 5). Llegamos a la conclusión de que el añadir un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ a un protocolo Resynch aumentaba la proporción de vacas que pasaban por una regresión luteal completa, aumentando así el G/IA, especialmente en las vacas que inician un protocolo Ovsynch en un entorno de baja P4, mientras que la disminución de la duración del protocolo Ovsynch no afectó al G/IA. Así, un

protocolo Ovsynch de 5-d con 2 tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ da como resultado una fertilidad ante la IATF similar pero no mayor que un protocolo Ovsynch de 7-d con 2 tratamientos $PGF_{2\alpha}$.

Lograr una tasa de gestación del 30% a los 21-d en un rebaño lechero de 30.000 libras.

En 2014, pusimos en marcha un agresivo sistema de gestión de la reproducción para la primeras IATF y Resynch IATF basado en los conceptos presentados en esta revisión para gestionar la Allenstain Dairy Teaching Herd (Rebaño Lechero de Formación Allenstain) que consta de aproximadamente 550 vacas Holstein situado en la Emmons Blaine Dairy Cattle Research Center en Arlington, WI (Centro de Investigación de Ganado Lechero de Emmons Blaine). Esta instalación es uno de los tres lugares que forman parte de las instalaciones lecheras integradas (Integrated Dairy Facilities) que sirve a la investigación, enseñanza y divulgación de las necesidades del Departamento de Ciencia Lechera (Department of Dairy Science) y la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Wisconsin-Madison. Se ordeñan las vacas dos veces al día y se alimentan de una TMR que cumple o supera los requisitos del NRC para vacas lecheras de alta producción. Solamente el 23% de las vacas en esta ubicación son primíparas porque 100 vacas primíparas son alojados en la Estación de Investigación Agrícola de Marshfield. Las vacas multíparas son tratadas con bST según recomendaciones de la etiqueta, mientras que las vacas primíparas no reciben bST. La producción promedio diario de leche es de 98 libras y la media ME305 para las vacas en esta explotación es de 31,116 libras.

Primer IATF. Todas las vacas fueron sometidas a una primera IATF entre el DIM 76 y 82 después de un protocolo de Doble Ovsynch como describieron Souza *et al.* (2008). El Breeding Ovsynch se lleva a cabo como un protocolo Ovsynch-56 según lo descrito por Brusveen *et al.* (2008) con la adición de un segundo tratamiento de PGF 24 horas después del primer tratamiento de $PGF_{2\alpha}$.

Resynch IATF. Todas las vacas fueron tratadas con GnRH 25 días después de la IATF. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ecografía transrectal a los 32 días posteriores del IATF y las vacas que no estaban en gestación se clasificaron entre las que tenían o carecían de un CL > 10 mm. de diámetro. La vacas no gestantes con un CL seguían un protocolo Ovsynch-56 recibiendo un tratamiento PGF2α 32 días después de la IATF con la adición de un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ 24 horas después del primer tratamiento de $PGF_{2\alpha}$. La vacas no gestantes que carecían de un CL reiniciaron un protocolo Ovsynch-56 que incluía un segundo tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ 24 horas después del primer tratamiento (es decir, GGPPG) según lo descrito por Carvalho *et al.* (2015a). Se incluyeron insertos intravaginales de P4 en el protocolo Ovsynch para las vacas que carecían de un CL en base a estudios que dicen que la P4 exógena aumentaba el G/IA en las vacas que carecen de un CL al inicio de un protocolo Ovsynch en comparación con las vacas con un CL al inicio de un protocolo Ovsynch (Bilby *et al.*, 2013; Bisinotto *et al.*, 2015).

Desempeño reproductivo. Durante el período de un año (septiembre de 2014 a septiembre de 2015), la tasa ajustada de gestación a 21-d (basado en una VWP de 76 días) en la Universidad de Wisconsin-Madison Arlington Herd alcanzó un promedio del 34%. La tasa de 21-d promedió al 68% y la tasa de concepción alcanzó un promedio del 52% (n = 1.093). La tasa de concepción ante el primer IATF alcanzó una media del 56% (n = 563), la tasa de concepción al segundo IATF obtuvo un promedio del 50% (n = 264), y la tasa de concepción ante un tercer IATF tuvo un promedio del 45% (n = 129). Los tres primeros IATF se producen de 76 a 170 DIM, y el 88 % de las vacas están en estado de gestación después de los primeros tres IATF. Más del 95% de las vacas en el rebaño recibe una IATF durante este periodo de tiempo.

CONCLUSIÓN

Este programa intensivo de gestión reproductivo basado en los conceptos presentados en esta revisión se ha traducido en unos resultados reproductivos sin precedentes en un rebaño de alta producción las vacas lecheras Holstein. Aunque el uso de un programa de fertilidad ideal es importante para lograr una alta tasa de gestación a los 21 días, las vacas deben estar sanas para lograr una alta tasa de fecundidad. Hay informes sobre muchos factores relacionados con la salud de las vacas que disminuyen el G/IA, incluida la incidencia de mastitis entre la IATF y el primer diagnóstico de la gestación (Fuenzalida *et al.*, 2015), una disminución en la puntuación de la condición corporal durante los primeros 21 días después del parto (Carvalho *et al.*, 2014a), y la mala salud uterina (Lima *et al.*, 2013).

BIBLIOGRAFÍA

- Bello, N. M., J. P. Steibel, and J. R. Pursley. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89:3413-3424.
- Bennett, W. A., T. L. Watts, W. D. Blair, S. J. Waldhalm, and J. W. Fuquay. 1988. Patterns of oviductal motility in the cow during the oestrous cycle. J. Reprod. Fert. 83:537-543.
- Bilby, T. R., R. G. S. Bruno, K. J. Lager, R. C. Chebel, J. G. N. Moraes, P. M. Fricke, G. Lopes, Jr., J. O. Giordano, J. E. P. Santos, F. S. Lima, S. L. Pulley, and J. S. Stevenson. 2013. Supplemental progesterone and timing of resynchronization on pregnancy outcomes in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:7032-7042.
- Bisinotto, R. S., R. C. Chebel, and J. E. P. Santos. 2010. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. J. Dairy Scie. 93:3578-3587.
- Bisinotto, R. S. And J. E. P. Santos. 2012. The use of endocrine treatments ot improve pregnancy rates in cattle. Reprod. Fertil. Dev. 24:258-266.
- Bisinotto, R. S., L. O. Castro, M. B. Pansani, C. D. Narciso, N. Martinez, L. D. P. Sinedino, T. L. C. Pinto, N. S. Van de Burgwal , H. M. Bosman, R. S. Surjus, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2015. Progesterone supplementation to lactating dairy cows without a corpus luteum at initiation of the Ovsynch protocol J. Dairy Sci. 98:2515-2528.
- Bridges, G. A., L. A. Helser, D. E. Grum, M. L. Mussard, C. L. Gasser, and M. L. Day. 2008. Decreasing the interval between GnRH and $PGF_{2\alpha}$ from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. Theriogenology 69:843-851.
- Bruno, R. G. S., A. M. Garias, J. A. Hernandez-Rivera, A. E. Navarrette, D. E. Hawkings, and T. R. Bilby. 2013. Effect of gonadotropin-releasing hormone or prostaglandin $F_{2\alpha}$-based estrus synchronization programs for first or subsequent artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:1556-1567.
- Bruno, R. G. S., J. G. N. Moraes, J. A. H. Hernández-Rivera, K. J. Lager, P. R. B. Silva, A. L. A. Scanavez, L. G. D. Mendonça, R. C. Chebel, and T. R. Bilby. 2014. Effect of an Ovsynch56 protocol initiated at different intervals after

insemination with or without a presynchronizing injection of gonadotropin-releasing hormone on fertility in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 97:185-194.

- Brusveen, D. J., A. P. Cunha, C. D. Silva, P. M. Cunha, R. A. Sterry, E. P. B. Silva, J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91:1044-1052.
- Brusveen, D. J., A. H. Souza, and M. C. Wiltbank. 2009. Effects of additional prostaglandin $F_{2\alpha}$ and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 92:1412-1422.
- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, M. J. Florent, N. B. Cook, K. V. Nordlund, N. R. Zwald, and C. M. Rawson. 2006. Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. J. Dairy Sci. 89:4723-4735.
- Carvalho, P. D., A. H. Souza, M. C. Amundson, K. S. Hackbart, M. J. Fuenzalida, M. M. Herlihy, H. Ayres, A. R. Dresch, L. M. Vieira, J. N. Guenther, P. M. Fricke, R. D. Shaver, and M. C. Wiltbank. 2014a. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 97:3666-3683.
- Cartmill, J. A., S. Z. El-Zarkouny, B. A. Hensley, G. C. Lamb, and J. S. Stevenson. 2001. Stage of cycle, incidence and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. J. Dairy Sci. 84:1051-1059.
- Carvalho, P. D., J. N. Guenther, M. J. Fuenzalida, M. C. Amundson, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2014b. Presynchronization using a modified Ovsynch protocol or a single gonadotropin-releasing hormone injection 7 d before an Ovsynch-56 protocol for submission of lactating dairy cows for first timed AI. J. Dairy Sci. 97:6305-6315.
- Carvalho, P. D., M. J. Fuenzalida, A. Ricci, A. H. Souza, R. V. Barletta, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015a. Modifications to Ovsynch improve fertility during resynchronization: Evaluation of presynchronization with GnRH 6 days before Ovsynch and addition of a second prostaglandin F2α treatment. J. Dairy Sci. (in press).
- Carvalho, P. D., M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015b. Manipulation of progesterone to increase ovulatory response to the first GnRH treatment of an Ovsynch protocol in lactating dairy cows receiving first timed artificial insemination. J. Dairy Sci. (in press).
- Carvalho, P. D., M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015c. Progesterone concentration at each treatment during an Ovsynch protocol affects fertility to timed AI in Holstein cows. J. Dairy Sci. 98(Suppl. 2):92.
- Cerri, R. L., H. M. Rutigliano, R. C. Chebel, and J. E. P. Santos. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. Reproduction 137:813-823.
- Colazo, M. G. and D. J. Ambrose. 2015. Effect of initial GnRH and duration of progesterone insert treatment on the fertility of lactating dairy cows. Reprod. Domest. Anim. 50:497-504.
- Denicol, A. C., G. Lopes Jr, L. G. D. Mendonça, F. A. Rivera, F. Guagnini, R. V. Perez, J. R. Lima, R. G. S. Bruno, J. E. P. Santos, and R. C. Chebel. 2012. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:1794-1806.
- El-Zarkouny, S. Z., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and J. S. Stevenson. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. J. Dairy Sci. 83:1024-1037.
- Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals after first timed insemination. J. Dairy Sci. 86:3941-3950.
- Fuenzalida, M. J., P. M. Fricke, and P. L. Ruegg. 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. J. Dairy Sci. 98:3791-3805.
- Galvão, K. N., M. F. Sá Filho, and J. E. P. Santos. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. J. Dairy Sci. 90:4212-4218.
- Giordano, J. O., P. M. Fricke, J. N. Guenther, G. Lopes Jr., M. M. Herlihy, A. B. Nascimento, and M. C. Wiltbank. 2012a. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of GnRH in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:3781-3793.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, M. S. Ares, G, Lopes Jr., M. M. Herlihy, and P. M. Fricke. 2012b. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:5612-5625.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, R. Pawlisch, S. Bas, A. P. Cunha, and P. M. Fricke. 2012c. Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch when compared to Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 95:639-653.
- Giordano, J. O., P. M. Fricke, S. Bas, R. Pawlisch, J. N. Guenther, A. B. Nascimento, and M. C. Wiltbank. 2013. Effect of increasing GnRH and $PGF_{2\alpha}$ dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. Theriogenology 80:773-783.
- Giordano, J. O., M. L. Stangaferro, R. Wijma, W. C. Chandler, and R. D. Watters. 2015. Reproductive performance of dairy cows managed with a program aimed at increasing insemination of cows in estrus based on increased physical activity and fertility of timed artificial inseminations. J. Dairy Sci. 98:2488-2501.
- Howard, H. J. and J. H. Britt. 1990. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ causes regression of an hCG-induced corpus luteum before Day 5 of its lifespan in cattle. J. Reprod. Fert. 90:245-253.
- Lima, F. S., R. S. Bisinotto, E. S. Ribeiro, L. F. Greco, H. Ayres, M. G. Favoreto, M. R. Carvalho, K. N. Galvão, and J.E.P Santos. 2013. Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin $F_{2\alpha}$ on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 96:6480–6488.

- Lopes, G. Jr., J. O. Giordano, A. Valenza, M. M. Herlihy, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2013. Effect of timing of initiation of resynchronization and presynchronization with gonadotropin-releasing hormone on fertility of resynchronized inseminations in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:3788-3798.
- Martins, J. P. N., R. K. Policelli, L. M. Neuder, W. Raphael, and J. R. Pursley. 2011. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin $F_{2\alpha}$ of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 94:2815-2824.
- Mihm, M., N. Curran, P. Hyttel, P. G. Knight, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. J. Reprod. Fertil. 116:293-304.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 84:1646-1659.
- Nascimento, A. B, A. H. Souza, A. Keskin, R. Sartori, and M. C. Wiltbank. 2014. Lack of complete regression of the Day 5 corpus luteum after one or two doses of $PGF_{2\alpha}$ in nonlactating Holstein cows. Theriogenology 81:389-395.
- Norman, H. D., J. R. Wright, S. M. Hubbard, R. H. Miller, and J. L. Hutchison. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. J. Dairy Sci. 92:3517-3528.
- Ricci, A., P. D. Carvalho, M. C. Amundson, and P. M. Fricke. 2014. Characterization of luteal dynamics in lactating dairy cows for 32 days after synchronization of ovulation and timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 97(Suppl. 1):693.
- Santos, J. E. P., C. D. Narciso, F. Rivera, W. W. Thatcher, and R. C. Chebel. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. J. Dairy Sci. 93:2976-2988.
- Santos, V. G., P. D. Carvalho, C. Maia, B. Carneiro, A. Valenza, E. M. Bettencourt, and P. M. Fricke. 2015. Effect of decreasing the duration of a PRID-synch protocol and addition of a second prostaglandin $F_{2\alpha}$ treatment on fertility after resynchronization of ovulation in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 98(Suppl. 2):543.
- Silva, E., R. A. Sterry, D. Kolb, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2007. Effect of pretreatment with prostaglandin F2α before resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 90:5509-5517.
- Souza, A. H., H. Ayres, R. M. Ferreira, and M. C. Wiltbank. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. Theriogenology 70:208-215.
- Souza, A. H., E. P. B. Silva, A. P. Cunha, A. Gumen, H. Ayres, D. J. Brusveen, J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. Theriogenology 75:722-733.
- Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2006. Effect of interval from timed AI to initiation of resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89:2099-2109.
- Stevenson, J. S. and S. L. Pulley. 2012. Pregnancy per artificial insemination after presynchronizing estrous cycles with the Presynch-10 protocol or prostaglandin $F_{2\alpha}$ injection followed by gonadotropin-releasing hormone before Ovsynch-56 in 4 dairy herds of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:6513-6522.

ENGLISH VERSION

Is high fertility possible in high-production herds?

P. M. Fricke, Ph.D.

Department of Dairy Science, University of Wisconsin - Madison

TAKE-HOME MESSAGES

- The key factor affecting fertility to an Ovsynch protocol is the response to each of the three sequential hormonal treatments which can be defined using progesterone profiles.
- Cows with the greatest fertility to timed AI have mid-level progesterone concentrations at the first GnRH treatment, high progesterone concentrations at the $PGF_{2\alpha}$ treatment, and low progesterone concentrations at the last GnRH treatment of the Ovsynch protocol.
- Presynchronization strategies that incorporate a combination of GnRH and $PGF_{2\alpha}$ to tightly control ovarian function optimize progesterone concentrations at the first GnRH and $PGF_{2\alpha}$ treatments of the Ovsynch protocol thereby increasing fertility.
- Cows that initiate an Ovsynch protocol in a low-progesterone environment ovulate to the first GnRH treatment at a high rate but fail to undergo complete luteal regression by the last GnRH treatment resulting in dramatically decreased fertility to timed AI.
- Addition of a second $PGF_{2\alpha}$ treatment 24 hours after the first within an Ovsynch protocol decreases progesterone concentrations at the last GnRH treatment thereby increasing fertility, particularly for cows that initiate Ovsynch in a low-progesterone environment.
- An aggressive reproductive management strategy that incorporates these concepts can result in an annualized 21-day pregnancy rate that exceeds 30% in healthy, high-producing dairy herds.

INTRODUCTION

Hormonal synchronization protocols have been incorporated widely into reproductive management programs by dairy farmers (Caraviello *et al.*, 2006; Norman *et al.*, 2009). The initial impact of TAI protocols on 21-day pregnancy rates in U.S. dairy herds has been to increase the AI service rate (Norman *et al.*, 2009); however, a deeper understanding of the physiology underlying the Ovsynch protocol has allowed for a dramatic increase in fertility to timed artificial insemination (**TAI**). As the title of this review suggests, perhaps it is now more appropriate to refer to the latest iteration of hormonal synchronization protocols as fertility programs for lactating dairy cows.

Progesterone (**P4**) is the most biologically active progestogen in cattle and is primarily produced and secreted into circulation by the corpus luteum (***CL***) during the estrous cycle and the placenta during pregnancy. Much of the recent research published in the scientific literature has focused on the role of P4 during an Ovsynch protocol (Figure 1) or at various time points during an Ovsynch protocol on fertility as measured by pregnancies per artificial insemination (**P/AI**) 32 days after TAI. For the purposes

of this review, the initial GnRH treatment of an Ovsynch protocol to which TAI occurs will be referred to as **G1** and the final GnRH treatment of an Ovsynch protocol immediately preceding TAI will be referred to as **G2** (Figure 1).

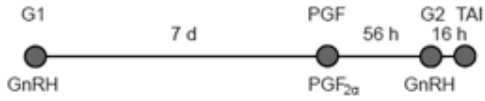


Figure 1. Schematic diagram of an Ovsynch protocol. G1 = first GnRH treatment; PGF = prostaglandin $F_{2\alpha}$ treatment; G2 = last GnRH treatment; TAI = timed artificial insemination.

Response to Each Treatment during an Ovsynch Protocol Determines Fertility to Timed AI

The effect of synchronization to each treatment during an Ovsynch protocol on fertility to TAI is illustrated in an analysis conducted as part of an experiment to compare two resynchronization strategies (Giordano *et al.*, 2012c). Lactating Holstein cows (n = 956) diagnosed not pregnant were randomly assigned to a Day 32 Resynch protocol or a Double Ovsynch Resynch protocol. As expected, P/AI 29 days after TAI was greater for Double Ovsynch than Day 32 cows (39 vs. 30%). Synchronization rate by treatment and P/AI of synchronized and non-synchronized cows was calculated for a subset of cows (n = 433) that had complete information including P4 concentration at $PGF_{2\alpha}$, and G2, as well as ovulatory response to G2 (Table 1). Cows were considered synchronized if they had high progesterone at the time of $PGF_{2\alpha}$ treatment, low progesterone at G2, and ovulated in response to G2.

Table 1. Synchronization rate for Holstein dairy cows resynchronized using an Ovsynch protocol initiated 32 days after a previous TAI (D32) or a Double Ovsynch (DO) protocol[1].

	Treatment			
	D32 % (n)	DO % (n)		*P*-value
P4 at PGF[2] Cows with low P4	35 (210)	17 (223)		<0.0001
P/AI for cows with low P4	10 73)	5 (38)		0.44
P/AI for cows with high P4	36 (137)	38 (185)		0.70
P4 at G2[3] Cows with high P4	17 137)	7 (185)		0.005
P/AI for cows with high P4	13 (23)	8 (12)		0.68
P/AI for cows with low P4	40 (114)	40 (173)		0.94
Ovulation after G2 Cows that did not ovulate	7 (114)	8 (173)		0.87
P/AI for cows that did not ovulate	0 (8)	0 (13)		1.00
P/AI for cows that ovulated	43 (106)	43 (160)		0.97
Synchronization rate Synchronized cows	51 (210)	72 (223)		0.0001
P/AI for non-synchronized cows	10 (104)	5 (63)		0.27
P/AI for synchronized cows	43 (106)	43 (160)		0.97

[1]Adapted from Giordano *et al.*, 2012c.

[2]Cut-off for low vs. high P4 was 1.0 ng/mL.

[3]GnRH2 = the second GnRH injection of the D32 protocol and the second GnRH injection of the Breeding-Resynch portion of the Double-Ovsynch protocol. Cut-off for low vs. high P4 was 0.4 ng/mL. Cows were considered synchronized when they had high progesterone before PGF treatment, low progesterone after PGF treatment (i.e., at G2), and responded to G2 by ovulating a follicle.

Overall, synchronized cows had more P/AI than cows failing to synchronize; however, P/AI for synchronized cows was identical for cows in both treatments. Thus, the effect of treatment on P/AI was due to a greater percentage of Double Ovsynch cows than D32 cows that synchronized (72 vs. 51%) primarily due to more Day 32 than Double Ovsynch cows without a functional CL at the $PGF_{2\alpha}$ treatment of the Ovsynch protocol (35% vs. 17%) or having incomplete CL regression at G2 (17% vs. 7%). We concluded that Double Ovsynch increased fertility of Holstein dairy cows during a resynchronization program primarily by increasing synchronization of cows to each treatment during the Ovsynch protocol. A similar analysis was conducted in another experiment which compared two Resynch protocols (Lopez *et al.*, 2013), and the results and conclusions were the same. The primary factor associated with fertility to TAI regardless of the treatment protocols compared was synchronization to the sequential treatments during the Ovsynch protocol.

Effect of Ovulatory Response to G1 on P/AI

Ovulatory response to G1 affects fertility to timed AI with increasing P/AI as ovulatory response to G1 increases (Bisinotto and Santos, 2012). Furthermore, circulating P4 concentrations attenuated a GnRH-induced LH surge through an inhibitory effect of P4 at the hypothalamic/pituitary axis (Giordano *et al.*, 2012a). Attenuation of the LH surge may in turn decrease ovulatory response to G1 thereby limiting fertility to TAI. We attempted to overcome the negative inhibition of P4 on the GnRH-induced LH surge by increasing the dose of GnRH (200 vs. 100 µg) administered at G1 during a Double Ovsynch protocol (Giordano *et al.*, 2013). Although ovulatory response was slightly increased (58%, n=325 vs. 67%, n=326), the resulting increase in P/AI did not reach statistical significance (Giordano *et al.*, 2013).

Because the early CL is refractory to $PGF_{2\alpha}$-induced luteolysis

until about 7 days after ovulation (Nascimento *et al.*, 2014), unless a mature CL also is present (Howard and Britt, 1990), treatment with $PGF_{2\alpha}$ 5 days after ovulation causes a dramatic decrease in P4 which then slowly rebounds as the CL recovers (Nascimento *et al.*, 2014). We tested a novel approach to increase ovulatory response to G1 by using the refractoriness of the early CL to exogenous $PGF_{2\alpha}$ to temporarily decrease P4 at G1 thereby increasing the magnitude of the LH surge (Carvalho *et al.*, 2015b). Lactating Holstein cows (n = 800) were synchronized for first TAI using a modified Double Ovsynch protocol [Pre-Ovsynch protocol (D0, GnRH; D7, $PGF_{2\alpha}$; D10, GnRH) followed 7 days later by an Ovsynch-56 protocol (D0, G1; D7, $PGF_{2\alpha}$; D8, $PGF_{2\alpha}$; D9.5, GnRH)] with TAI occurring ~16 hours after G2. Cows were randomly assigned to receive 12.5 mg $PGF_{2\alpha}$ (a half-dose of dinoprost tromethamine) 2 days before G1 (Low-P4) or serve as untreated controls (High-P4). As expected, High-P4 cows had greater P4 concentrations at G1 than Low-P4 cows (3.0 vs. 1.3 ng/mL, respectively), and ovulatory response to G1 was dramatically increased for Low-P4 vs. High-P4 cows [81.1% vs. 60.3%, respectively]. Overall, P/AI did not differ between treatments 32 days after TAI [56% vs. 53%, for Low-P4 vs. High-P4 cows, respectively] or 67 days after AI [51% vs. 48%, for Low-P4 vs. High-P4 cows, respectively]. The increase in P/AI for cows that ovulated to G1 (16%) combined with the observed increase in ovulation to G1 due to treatment (21%; Low-P4 – High-P4) resulted in an expected numerical increase in P/AI of 3% in Low-P4 vs. High-P4 cows observed in this experiment. Thus, although we dramatically increased ovulatory response to G1 during a Double Ovsynch protocol (20 percentage points), the increase in P/AI did not reach statistical significance.

To determine the effect of ovulatory response to G1 and the presence of a functional CL at G1 affected P/AI, we analyzed synchronization rates of Holstein cows randomized to two Resynch protocols (Giordano *et al.*, 2012c). Regardless of treatment, cows that ovulated to G1 had more P/AI when cows lacked a functional CL at G1; however, there was no difference in P/AI based on ovulatory response to G1 when cows had a functional CL at G1 (Table 2). Furthermore, cows with a functional CL at G1 had more P/AI than cows lacking a functional CL at G1 regardless of their ovulatory response to G1. Results from these experiments support that, although ovulatory response to G1 of an Ovsynch protocol can affect P/AI to TAI, P4 at G1 has a greater effect on P/AI than ovulatory response to G1.

Table 2. Synchronization rate for resynchronized Holstein dairy cows classified based on the presence or absence of a functional CL (≥0.5 ng/mL of P4) and ovulatory response to the first GnRH treatment (G1) of an Ovsynch protocol[1].

Item	Cows lacking a functional CL		Cows with a functional CL	
Ovulation to G1	No	Yes	No	Yes
	% (n)			
Cows at G1	10 (426)	14 (426)	54 (426)	21 (426)
P/AI	11[b] (44)	23[ab] (61)	32[a] (231)	37[a] (90)
Cows with low P4 at PGF	73[c] (44)	18[ab] (61)	26[b] (231)	8[a] (90)
Cows with high P4 at G2	17[ab] (12)	40[a] (50)	4[b] (172)	8[b] (83)
Cows with no ov. to G2	10 (10)	0 (30)	8 (166)	9 (76)
Synchronization rate	21[c] (44)	49[b] (61)	66[a] (231)	77[a] (90)

[1]Adapted from Giordano *et al.*, 2012c.

[a,b,c]Within a row, proportions with different superscripts differ (P < 0.01).

Effect of Progesterone at G1 and PGF on P/AI

To assess the association between P4 concentrations at each treatment of an Ovsynch protocol and P/AI to TAI in lactating Holstein cows, we analyzed data from 7,792 cows from 14 experiments in which P4 was measured at the three hormonal treatments during an Ovsynch protocol (Figure 2; Carvalho *et al.*, 2015 c). The association between P4 during the Ovsynch protocol and P/AI to TAI was analyzed independently because P4 was not measured for all cows at all hormonal treatments during the Ovsynch protocol in all experiments.

At G1, cows (n = 6,144) were stratified into 9 P4 categories from 0 to ≥ 7 ng/mL using 0.5 ng/mL increments (Figure 2, upper panel). Overall, P/AI differed (P < 0.01) among P4 categories at G1 with fewer P/AI for cows with P4 < 0.5 ng/mL or P4 > 7.0 ng/mL than for cows with intermediate P4. At the $PGF_{2\alpha}$ treatment, cows (n = 3,383) were stratified into 9 P4 categories from 0 to ≥ 8 ng/mL using 1.0 ng/mL increments (Figure 2, middle panel). Overall, P/AI differed (P < 0.01) among P4 categories at $PGF_{2\alpha}$ with a 51% relative decrease in P/AI for cows with P4 < 1.0 ng/mL than for cows with P4 > 1.0 ng/mL. Based on this large dataset, suboptimal P4 concentrations could be identified at G1 in 26% of cows (26% lower P/AI) and at the $PGF_{2\alpha}$ treatment in 21% of cows (51% lower P/AI).

Presynchronization strategies before initiation of an Ovsynch protocol at first TAI or Resynch TAI can optimize P4 at G1 and $PGF_{2\alpha}$ in most cows resulting in more P/AI than for cows submitted to an Ovsynch protocol with no presynchronization. Presynchronization strategies tested thus far have used one $PGF_{2\alpha}$ treatment administered 10 days (Cartmill *et al.*, 2001) or 14 days (Silva *et al.*, 2007; Bruno *et al.*, 2013) before initiation of an Ovsynch protocol two $PGF_{2\alpha}$ treatments administered 14 days apart with the second treatment administered 10 to 14 days before initiation of an Ovsynch protocol (i.e., Presynch Ovsynch; Moreira *et al.*, 2001; El-Zarkouny *et al.*, 2004; Navanukraw *et al.*, 2004; Galvão *et al.*, 2007), a single GnRH treatment 7 days before Ovsynch (i.e., GGPG; Giordano *et al.*, 2012b; Lopes Jr *et al.*, 2013; Bruno *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2014a), a combination of GnRH and $PGF_{2\alpha}$ 6 to 7 days before initiation of an Ovsynch protocol (i.e., G6G, Double-Ovsynch, and PG-3-G; Bello *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2008; Stevenson and Pulley, 2012). Independent of the presynchronization strategy tested, there was an increase in P/AI when P4 concentrations were increased at the time of the $PGF_{2\alpha}$ treatment of the Ovsynch protocol (Bello *et al.*, 2006, Bisinotto *et al.*, 2010, Denicol *et al.*, 2012, Stevenson *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2011).

Effect of Progesterone at G2 on P/AI

Based on our analysis of cows from 14 different studies in which P4 was measured at the various treatments during an Ovsynch protocol (Figure 2; Carvalho *et al.*, 2015c), a critical factor associated with P/AI to TAI is P4 at G2. At G2, cows (n = 3,148) were stratified into 8 P4 categories from 0 to ≥ 0.7 ng/mL using 0.1 ng/mL increments (Figure 2, lower panel). Overall, P/AI differed (P < 0.01) among P4 categories at G2 with a 66% relative decrease in P/AI for cows with P4 > 0.4 ng/mL than for cows with P4 < 0.4 ng/mL. Based on these data,

a major problem with current TAI protocols is that a subset of cows fails to fully regress their CL resulting in P4 levels at G2 that limit fertility. The underlying physiology by which slightly increased P4 levels at G2 cause this decreased fertility to TAI is not clear. Some possibilities include a negative association between P4 during the estrous cycle and oviductal and uterine motility thereby decreasing gamete transport and fertilization rate (Bennett *et al.*, 1988) or decreased uterine thickness at TAI associated with decreased fertility to TAI in cows (Souza *et al.*, 2011).

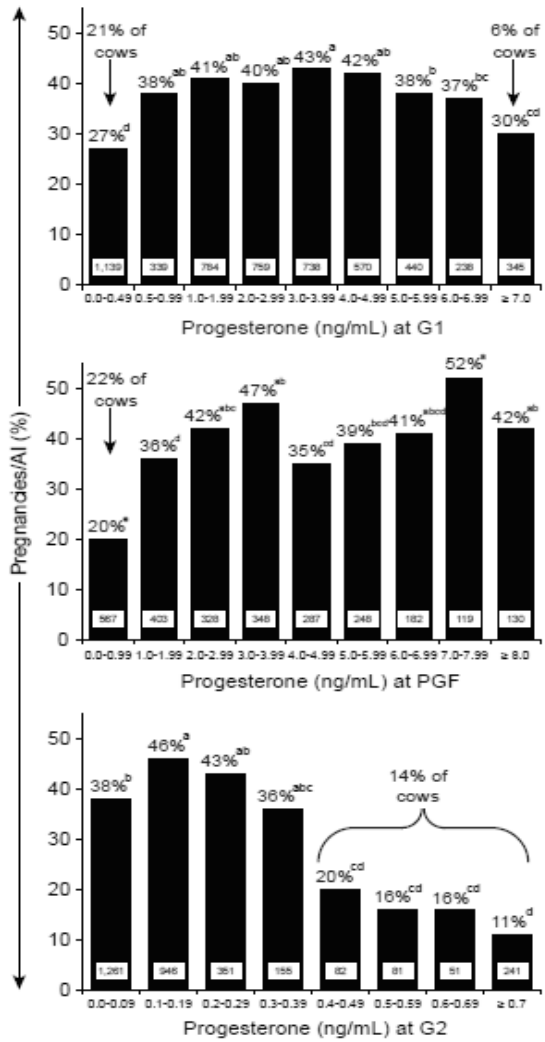


Figure 2. Effect of progesterone at each treatment of an Ovsynch protocol on pregnancies per AI in lactating Holstein cows. At G1, concentrations of progesterone in 6,144 cows were stratified into nine P4 categories from 0 to ≥7 ng/mL using 0.5 ng/mL increments (upper panel). At the PGF2α treatment, concentrations of progesterone in 3,383 cows were stratified into nine P4 categories from 0 to ≥8 ng/mL using 1.0 ng/mL increments (middle panel). At G2, concentrations of progesterone in 3,148 cows were stratified into eight P4 categories from 0 to ≥0.7 ng/mL using 0.1 ng/mL increments (lower panel). Numbers within bars denote number of cows in each progesterone category. Adapted from Carvalho *et al.* (2015c).

Addition of a Second PGF$_{2\alpha}$ Treatment Increases P/AI

Based on the analysis of the large dataset of P4 profiles during an Ovsynch protocol (Carvalho *et al.*, 2015c), suboptimal P4 concentrations were identified at G1 in 26% of cows (26% lower P/AI), at PGF in 21% of cows (51% lower P/AI), and at G2 in 14% of cows (66% lower P/AI). Our conclusion based on this analysis was that achieving optimal P4 during an Ovsynch protocol may allow for a dramatic increase in fertility in lactating dairy cows. Incomplete luteal regression measured as P4 ≥ 0.4 ng/mL at G2 has been associated with decreased P/AI at first and Resynch TAI. Decreased P/AI associated with incomplete luteal regression is particularly manifested in cows in which an Ovsynch protocol is initiated in a low-P4 environment (Giordano *et al.*, 2012c; Carvalho *et al.*, 2015b; Santos *et al.* 2015). This is likely because cows with one young CL (~6d) at the PGF$_{2\alpha}$ treatment during an Ovsynch protocol fail to fully regress to a single PGF$_{2\alpha}$ treatment because some cows have young CL that have not fully acquired luteolytic capacity (Nascimento *et al.*, 2014).

Based on an analysis of data from an experiment in which cows were resynchronized using a Double Ovsynch protocol (Giordano *et al.*, 2012c), we classified cows based on the age and number of CL present at the PGF$_{2\alpha}$ treatment of an Ovsynch protocol and assessed the rate of complete luteal regression (Table 3). Cows with a single CL ~13 days of age had a 97% luteal regression rate, and cows with a CL ~13 days of age and a CL ~6 days of age had a 92% luteal regression rate. By contrast, cows with a single CL ~6 days of age had only a 64% luteal regression rate. Cows that initiate an Ovsynch protocol in a low P4 environment (whether anovular or cyclic and lacking a CL) have a high ovulatory response to G1 resulting in a single CL ~6 days of age present at the PGF$_{2\alpha}$ treatment of the Ovsynch protocol. Approximately one-third of these cows fail to fully regress this young CL resulting in slightly elevated P4 levels at G2 which dramatically decrease P/AI.

Table 3. Effect of age and number of CL at the final PGF$_{2\alpha}$ treatment during a Double Ovsynch protocol on the proportion of Holstein dairy cows undergoing complete luteal regression by G2 (P4 < 0.4 ng/mL)[1].

Age and number of CL at PGF$_{2\alpha}$ treatment	Proportion of cows with complete luteolysis, % (n)
Day 6 CL	64 (59)
Day 6 and Day 13 CL	92 (74)
Day 13 CL	97 (166)

[1]Adapted from Giordano *et al.*, 2012c

Several experiments have assessed the effect of adding a second PGF$_{2\alpha}$ treatment during an Ovsynch protocol to decrease P4 at G2 on fertility to TAI at first TAI as well as at Resynch TAI.

First TAI. Lactating Holstein cows were randomly assigned to a Double Ovsynch protocol (control) or a Double Ovsynch protocol that included a second PGF$_{2\alpha}$ treatment 24 hours after the first (Brusveen *et al.*, 2009). Cows receiving 2 PGF$_{2\alpha}$ treatments during the Ovsynch protocol had a greater incidence of luteal regression than cows receiving 1 PGF$_{2\alpha}$ treatment (98% vs. 86%); however, P/AI to first TAI did not differ between cows receiving 2 vs. 1 PGF$_{2\alpha}$ treatments (53% vs. 47%, respectively). The 6 percentage point difference in P/AI would be expected based on the 12 percentage point increase in luteal regression combined with a 50% conception rate to TAI in this experiment. Further, the physiological impact of adding a second PGF$_{2\alpha}$ treatment during a Double Ovsynch protocol may be limited

because a Double Ovsynch protocol results in most cows having a CL ~13 days of age, or a CL ~13 days of age and a CL ~6 days of age at the $PGF_{2\alpha}$ treatment and avoids setting up cows with a young CL ~6 days of age at the $PGF_{2\alpha}$ treatment that fail to fully regress (Table 3).

Resynch TAI. Whereas resynchronization strategies have yielded significant increases in P/AI to first TAI, many herds struggle with poor fertility to an Ovsynch protocol used for Resynch TAI. In several studies, 16%, 22%, and 35% of cows diagnosed not pregnant 32 days after TAI and that did not receive a GnRH treatment 7 days before pregnancy diagnosis lacked a CL (Fricke *et al.*, 2003; Sterry *et al.*, 2006; Giordano *et al.*, 2015). When cows were synchronized for first TAI and P4 profiles and CL diameter was measured until a pregnancy diagnosis 32 days later, 19% of cows diagnosed not pregnant lacked a CL > 10 mm in diameter (Ricci *et al.*, 2014). Thus, up to one-third of nonpregnant cows initiate a Resynch protocol in a low P4 environment which leads to a lack of luteal regression and low fertility to Resynch TAI. We conducted an experiment to determine the effect of adding a second $PGF_{2\alpha}$ treatment 24 hours after the first within an Ovsynch protocol would increase P/AI to TAI after a Resynch protocol (Carvalho *et al.*, 2015a). A greater (P < 0.01) proportion of cows receiving 1 $PGF_{2\alpha}$ treatment had incomplete luteal regression (≥ 0.4 ng/mL) than cows receiving 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments regardless of P4 concentrations at G1 (Table 4). For cows with P4 concentrations < 1.0 ng/mL at G1, cows receiving 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments had more (P = 0.03) P/AI than cows receiving 1 $PGF_{2\alpha}$ treatment, whereas for cows with P4 concentrations ≥ 1.0 ng/mL at G1, P/AI did not differ (P = 0.46) between cows receiving 1 vs. 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments (Table 4).

Table 4. Effect of 1 vs. 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments during an Ovsynch protocol on luteal regression and pregnancies per AI (P/AI) for Holstein dairy cows with low vs. high progesterone (P4) concentrations at the first GnRH treatment of an Ovsynch protocol (G1)[1].

	Treatment	
Item	1 $PGF_{2\alpha}$	2 $PGF_{2\alpha}$
	———— % (n) ————	
Cows undergoing complete luteal regression		
Low P4 (<1.0 ng/mL) at G1	70[a] (76)	96[b] (74)
High P4 (>1.0 ng/mL) at G1	89[a] (236)	98[b] (214)
Overall	83[a] (312)	98[b] (288)
P/AI 32 days after TAI		
Low P4 (<1.0 ng/mL) at G1	33[c] (107)	46[d] (110)
High P4 (>1.0 ng/mL) at G1	33 (312)	37 (289)
Overall	33[c] (419)	39[d] (399)

[1]Adapted from Carvalho *et al.*, 2015a.

[a,b]Proportions differ (P < 0.01).

[c,d]Proportions differ (P < 0.05).

5-d vs. 7-d Ovsynch Protocols

Decreasing the interval between G1 and the $PGF_{2\alpha}$ treatment from 7 (7-d protocol) to 5 (5-d protocol) during an Ovsynch protocol was first described in a series of experiments with beef cows (Bridges *et al.*, 2008). Although timing of AI after the $PGF_{2\alpha}$ treatment differed between cows in the 7-d protocol than in the 5-d protocol, more cows in the 5-d protocol than the 7-d protocol become pregnant to TAI in two experiments (80% vs. 67%, respectively and 65% vs. 56%, respectively). In 2010, a 5-d Ovsynch protocol was compared to a 7-d Cosynch72 protocol in lactating Holstein cows (Santos *et al.*, 2010). In that study, cows in the 5-d protocol received two $PGF_{2\alpha}$ treatments whereas cows in the 7-d protocol received only one $PGF_{2\alpha}$ treatment. Overall, cows in the 5-d protocol had more P/AI than cows in the 7-d protocol (38% vs. 31%). Santos *et al.* (2010) conducted an analysis to control for a difference in luteal regression rates between cows receiving 1 vs. 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments by analyzing only cows with P4 < 1 ng/mL on the day of AI, and P/AI was again greater for the 5-d than the 7-d protocol (39% vs. 34%). The authors attributed this treatment effect to a reduced period of follicle dominance for cows in the 5-d Ovsynch protocol. Colazo and Ambrose (2015) also compared a 5-d protocol with two $PGF_{2\alpha}$ treatments to a 7-d protocol with one $PGF_{2\alpha}$ treatment; however, P/AI did not differ statistically between treatments (39% vs. 34%).

We conducted an experiment to directly compare the effect of addition of a second $PGF_{2\alpha}$ treatment and the effect of decreasing the duration of the Ovsynch protocol from 7 to 5 days on P4 concentrations and P/AI after resynchronization of ovulation and TAI (Santos *et al.*, 2015). Lactating Holstein cows (n = 821) were randomly assigned at a nonpregnancy diagnosis (d 0 = 32 d after AI) to one of three Resynch protocols: 1) 7D1PGF (GnRH, d 0; $PGF_{2\alpha}$, d 7; GnRH, d 9.5); 2) 7D2PGF (GnRH, d 0; $PGF_{2\alpha}$, d 7; $PGF_{2\alpha}$, d 8; GnRH, d 9.5); and 3) 5D2PGF (GnRH, d 2; $PGF_{2\alpha}$, d 7; $PGF_{2\alpha}$, d 8; GnRH, d 9.5). All cows received an intravaginal P4 insert (PRID Delta; Ceva Santé Animale, Libourne, France) at G1 of the resynchronization protocol which was removed at the first $PGF_{2\alpha}$ treatment, and all cows received a TAI approximately 16 hours after G2.

Table 5. Effect of presence of a corpus luteum (CL) at Day 0 on pregnancies per AI (P/AI) in Holstein dairy cows 32 days after TAI[1].

	Treatment			*P*-value[2]		
P/AI	7D1PGF	7D2PGF	5D2PGF	T	C1	C2
	———— % (n) ————					
Overall	36 (266)	41 (268)	44 (265)	0.14	0.05	0.56
Cows with a CL at G1	38 (196)	40 (191)	43 (189)	0.51	0.35	0.49
Cows lacking a CL at G1	30 (70)	46 (77)	45 (76)	0.11	0.03	0.98

[1]Adapted from Santos *et al.*, 2015.

[2]C1: preplanned contrast between 7D1PGF (one $PGF_{2\alpha}$) and 7D2PGF + 5D2PGF (two $PGF_{2\alpha}$) treatments; C2: preplanned contrast between 7D2PGF (7-d protocol) and 5D2PGF (5-d protocol) treatments.

Overall, there was no effect of treatment on P/AI (Table 5). When the data were analyzed based on the presence or absence of a CL at G1, cows lacking a CL and receiving two $PGF_{2\alpha}$ treatments had more (P = 0.03) P/AI than cows receiving one $PGF_{2\alpha}$ treatment regardless of duration of the protocol, whereas there was no effect of treatment for cows that had a CL at G1 (Table 5). We concluded that addition of a second $PGF_{2\alpha}$ treatment to a Resynch protocol increased the proportion of cows undergoing complete luteal regression thereby increasing P/AI, particularly for cows that initiate an Ovsynch protocol

in a low-P4 environment, whereas decreasing the duration of the Ovsynch protocol did not affect P/AI. Thus, a 5-d Ovsynch protocol with 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments results in similar but not increased fertility to TAI than a 7-d Ovsynch protocol with 2 $PGF_{2\alpha}$ treatments.

Achieving a 30% 21-d Pregnancy Rate in a 30,000 lb. Dairy Herd

In 2014, we implemented an aggressive reproductive management system for first and Resynch TAI based on the concepts presented in this review to manage the Allenstein Dairy Teaching Herd, which consists of approximately 550 Holstein cows located at the Emmons Blaine Dairy Cattle Research Center in Arlington, WI. This facility is one of three locations constituting the Integrated Dairy Facilities that serves the research, teaching, and outreach needs of the Department of Dairy Science and the School of Veterinary Medicine at the University of Wisconsin-Madison. Cows are milked twice daily and are fed a TMR that meets or exceeds NRC requirements for high-producing dairy cows. Only 23% of the cows at this location are primiparous because 100 primiparous cows are housed at the Marshfield Agricultural Research Station. Multiparous cows are treated with bST as per label recommendation, whereas primiparous cows do not receive bST. Average daily milk production is 98 lbs. and average ME305 for the cows at this location is 31,116 lbs.

First TAI. All cows are submitted for first TAI between 76 and 82 DIM after a Double Ovsynch protocol as described by Souza *et al.* (2008). The Breeding Ovsynch is conducted as an Ovsynch-56 protocol as described by Brusveen *et al.* (2008) with the addition of a second PGF treatment 24 hours after the first $PGF_{2\alpha}$ treatment.

Resynch TAI. All cows are treated with GnRH 25 days after TAI. Pregnancy diagnosis is conducted using transrectal ultrasonography 32 days after TAI, and cows diagnosed not pregnant are classified as having or lacking a CL > 10 mm in diameter. Nonpregnant cows with a CL continue an Ovsynch-56 protocol by receiving a $PGF_{2\alpha}$ treatment 32 days after TAI with the addition a second $PGF_{2\alpha}$ treatment 24 hours after the first $PGF_{2\alpha}$ treatment. Nonpregnant cows lacking a CL restart an Ovsynch-56 protocol that includes a second $PGF_{2\alpha}$ treatment 24 hours after the first (i.e., GGPPG) as described by Carvalho *et al.* (2015a). Intravaginal P4 inserts are included within the Ovsynch protocol for cows lacking a CL based on studies in which exogenous P4 increased P/AI for cows lacking a CL at initiation of an Ovsynch protocol to that of cows with a CL at initiation of an Ovsynch protocol (Bilby *et al.*, 2013; Bisinotto *et al.*, 2015).

Reproductive Performance. During a one-year period (September 2014 to September 2015), the adjusted 21-d pregnancy rate (based on a 76 day VWP) in the University of Wisconsin-Madison Arlington dairy herd averaged 34%. The 21-d service risk averaged 68%, and overall conception risk averaged 52% (n = 1,093). Conception risk to first TAI averaged 56% (n = 563), conception risk to second TAI averaged 50% (n = 264), and conception risk to third TAI averaged 45% (n = 129). The first three TAI occur from 76 to 170 DIM, and 88% of cows are pregnant after the first three TAI. Over 95% of cows in the herd receives a TAI during this time period.

CONCLUSION

This intensive reproductive management protocol based on the concepts presented in this review has resulted in reproductive performance that is unprecedented for a herd of high-producing Holstein dairy cows. Although use of an ideal fertility program is important for achieving a high 21-day pregnancy rate, cows must be healthy to achieve high fertility. Many cow health factors have been reported to decrease P/AI to TAI including the incidence of mastitis between TAI and the first pregnancy diagnosis (Fuenzalida *et al.*, 2015), a decrease in body condition score during the first 21 days after calving (Carvalho *et al.*, 2014a), and poor uterine health (Lima *et al.*, 2013).

REFERENCES

- Bello, N. M., J. P. Steibel, and J. R. Pursley. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89:3413-3424.
- Bennett, W. A., T. L. Watts, W. D. Blair, S. J. Waldhalm, and J. W. Fuquay. 1988. Patterns of oviductal motility in the cow during the oestrous cycle. J. Reprod. Fert. 83:537-543.
- Bilby, T. R., R. G. S. Bruno, K. J. Lager, R. C. Chebel, J. G. N. Moraes, P. M. Fricke, G. Lopes, Jr., J. O. Giordano, J. E. P. Santos, F. S. Lima, S. L. Pulley, and J. S. Stevenson. 2013. Supplemental progesterone and timing of resynchronization on pregnancy outcomes in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:7032-7042.
- Bisinotto, R. S., R. C. Chebel, and J. E. P. Santos. 2010. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. J. Dairy Scie. 93:3578-3587.
- Bisinotto, R. S. And J. E. P. Santos. 2012. The use of endocrine treatments ot improve pregnancy rates in cattle. Reprod. Fertil. Dev. 24:258-266.
- Bisinotto, R. S., L. O. Castro, M. B. Pansani, C. D. Narciso, N. Martinez, L. D. P. Sinedino, T. L. C. Pinto, N. S. Van de Burgwal , H. M. Bosman, R. S. Surjus, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2015. Progesterone supplementation to lactating dairy cows without a corpus luteum at initiation of the Ovsynch protocol J. Dairy Sci. 98:2515-2528.
- Bridges, G. A., L. A. Helser, D. E. Grum, M. L. Mussard, C. L. Gasser, and M. L. Day. 2008. Decreasing the interval between GnRH and $PGF_{2\alpha}$ from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. Theriogenology 69:843-851.
- Bruno, R. G. S., A. M. Garias, J. A. Hernandez-Rivera, A. E. Navarrette, D. E. Hawkings, and T. R. Bilby. 2013. Effect of gonadotropin-releasing hormone or prostaglandin $F_{2\alpha}$-based estrus synchronization programs for first or subsequent artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:1556-1567.
- Bruno, R. G. S., J. G. N. Moraes, J. A. H. Hernández-Rivera, K. J. Lager, P. R. B. Silva, A. L. A. Scanavez, L. G. D. Mendonça, R. C. Chebel, and T. R. Bilby. 2014. Effect of an Ovsynch56 protocol initiated at different intervals after insemination with or without a presynchronizing injection of gonadotropin-releasing hormone on fertility in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 97:185-194.
- Brusveen, D. J., A. P. Cunha, C. D. Silva, P. M. Cunha, R. A. Sterry, E. P. B. Silva, J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91:1044-1052.
- Brusveen, D. J., A. H. Souza, and M. C. Wiltbank. 2009.

Effects of additional prostaglandin $F_{2\alpha}$ and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 92:1412-1422.

- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, M. J. Florent, N. B. Cook, K. V. Nordlund, N. R. Zwald, and C. M. Rawson. 2006. Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. J. Dairy Sci. 89:4723-4735.
- Carvalho, P. D., A. H. Souza, M. C. Amundson, K. S. Hackbart, M. J. Fuenzalida, M. M. Herlihy, H. Ayres, A. R. Dresch, L. M. Vieira, J. N. Guenther, P. M. Fricke, R. D. Shaver, and M. C. Wiltbank. 2014a. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 97:3666-3683.
- Cartmill, J. A., S. Z. El-Zarkouny, B. A. Hensley, G. C. Lamb, and J. S. Stevenson. 2001. Stage of cycle, incidence and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. J. Dairy Sci. 84:1051-1059.
- Carvalho, P. D., J. N. Guenther, M. J. Fuenzalida, M. C. Amundson, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2014b. Presynchronization using a modified Ovsynch protocol or a single gonadotropin-releasing hormone injection 7 d before an Ovsynch-56 protocol for submission of lactating dairy cows for first timed AI. J. Dairy Sci. 97:6305-6315.
- Carvalho, P. D., M. J. Fuenzalida, A. Ricci, A. H. Souza, R. V. Barletta, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015a. Modifications to Ovsynch improve fertility during resynchronization: Evaluation of presynchronization with GnRH 6 days before Ovsynch and addition of a second prostaglandin F2α treatment. J. Dairy Sci. (in press).
- Carvalho, P. D., M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015b. Manipulation of progesterone to increase ovulatory response to the first GnRH treatment of an Ovsynch protocol in lactating dairy cows receiving first timed artificial insemination. J. Dairy Sci. (in press).
- Carvalho, P. D., M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015c. Progesterone concentration at each treatment during an Ovsynch protocol affects fertility to timed AI in Holstein cows. J. Dairy Sci. 98(Suppl. 2):92.
- Cerri, R. L., H. M. Rutigliano, R. C. Chebel, and J. E. P. Santos. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. Reproduction 137:813-823.
- Colazo, M. G. and D. J. Ambrose. 2015. Effect of initial GnRH and duration of progesterone insert treatment on the fertility of lactating dairy cows. Reprod. Domest. Anim. 50:497-504.
- Denicol, A. C., G. Lopes Jr, L. G. D. Mendonça, F. A. Rivera, F. Guagnini, R. V. Perez, J. R. Lima, R. G. S. Bruno, J. E. P. Santos, and R. C. Chebel. 2012. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:1794-1806.
- El-Zarkouny, S. Z., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and J. S. Stevenson. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. J. Dairy Sci. 83:1024-1037.
- Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals after first timed insemination. J. Dairy Sci. 86:3941-3950.
- Fuenzalida, M. J., P. M. Fricke, and P. L. Ruegg. 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. J. Dairy Sci. 98:3791-3805.
- Galvão, K. N., M. F. Sá Filho, and J. E. P. Santos. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. J. Dairy Sci. 90:4212-4218.
- Giordano, J. O., P. M. Fricke, J. N. Guenther, G. Lopes Jr., M. M. Herlihy, A. B. Nascimento, and M. C. Wiltbank. 2012a. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of GnRH in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:3781-3793.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, M. S. Ares, G, Lopes Jr., M. M. Herlihy, and P. M. Fricke. 2012b. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:5612-5625.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, R. Pawlisch, S. Bas, A. P. Cunha, and P. M. Fricke. 2012c. Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch when compared to Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 95:639-653.
- Giordano, J. O., P. M. Fricke, S. Bas, R. Pawlisch, J. N. Guenther, A. B. Nascimento, and M. C. Wiltbank. 2013. Effect of increasing GnRH and $PGF_{2\alpha}$ dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. Theriogenology 80:773-783.
- Giordano, J. O., M. L. Stangaferro, R. Wijma, W. C. Chandler, and R. D. Watters. 2015. Reproductive performance of dairy cows managed with a program aimed at increasing insemination of cows in estrus based on increased physical activity and fertility of timed artificial inseminations. J. Dairy Sci. 98:2488-2501.
- Howard, H. J. and J. H. Britt. 1990. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ causes regression of an hCG-induced corpus luteum before Day 5 of its lifespan in cattle. J. Reprod. Fert. 90:245-253.
- Lima, F. S., R. S. Bisinotto, E. S. Ribeiro, L. F. Greco, H. Ayres, M. G. Favoreto, M. R. Carvalho, K. N. Galvão, and J.E.P Santos. 2013. Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin $F_{2\alpha}$ on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 96: 6480–6488.
- Lopes, G. Jr., J. O. Giordano, A. Valenza, M. M. Herlihy, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2013. Effect of timing of initiation of resynchronization and presynchronization with gonadotropin-releasing hormone on fertility of resynchronized inseminations in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:3788-3798.
- Martins, J. P. N., R. K. Policelli, L. M. Neuder, W. Raphael, and J. R. Pursley. 2011. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin $F_{2\alpha}$ of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 94:2815-2824.

- Mihm, M., N. Curran, P. Hyttel, P. G. Knight, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. J. Reprod. Fertil. 116:293-304.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 84:1646-1659.
- Nascimento, A. B, A. H. Souza, A. Keskin, R. Sartori, and M. C. Wiltbank. 2014. Lack of complete regression of the Day 5 corpus luteum after one or two doses of $PGF_{2\alpha}$ in nonlactating Holstein cows. Theriogenology 81:389-395.
- Norman, H. D., J. R. Wright, S. M. Hubbard, R. H. Miller, and J. L. Hutchison. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. J. Dairy Sci. 92:3517-3528.
- Ricci, A., P. D. Carvalho, M. C. Amundson, and P. M. Fricke. 2014. Characterization of luteal dynamics in lactating dairy cows for 32 days after synchronization of ovulation and timed artificial insemination. J. Dairy Sci. 97(Suppl. 1):693.
- Santos, J. E. P., C. D. Narciso, F. Rivera, W. W. Thatcher, and R. C. Chebel. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. J. Dairy Sci. 93:2976-2988.
- Santos, V. G., P. D. Carvalho, C. Maia, B. Carneiro, A. Valenza, E. M. Bettencourt, and P. M. Fricke. 2015. Effect of decreasing the duration of a PRID-synch protocol and addition of a second prostaglandin $F_{2\alpha}$ treatment on fertility after resynchronization of ovulation in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 98(Suppl. 2):543.
- Silva, E., R. A. Sterry, D. Kolb, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2007. Effect of pretreatment with prostaglandin F2α before resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 90:5509-5517.
- Souza, A. H., H. Ayres, R. M. Ferreira, and M. C. Wiltbank. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. Theriogenology 70:208-215.
- Souza, A. H., E. P. B. Silva, A. P. Cunha, A. Gumen, H. Ayres, D. J. Brusveen, J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. Theriogenology 75:722-733.
- Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2006. Effect of interval from timed AI to initiation of resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89:2099-2109.
- Stevenson, J. S. and S. L. Pulley. 2012. Pregnancy per artificial insemination after presynchronizing estrous cycles with the Presynch-10 protocol or prostaglandin $F_{2\alpha}$ injection followed by gonadotropin-releasing hormone before Ovsynch-56 in 4 dairy herds of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:6513-6522.

DIAGNÓSTICO DE LA GESTACIÓN: PASADO, PRESENTE Y FUTURO

K. G. Pohler, G. A. Franco, S.T. Reese, F. G. Dantas, S. L. Speckhart, T. B. Ault, R. V. Oliveira, T. S. Maia, A. P. O. Santos [1], A.B. Pollock[1], E.C. Atabay

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX
Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN
Philippine CarabaoCenter, CLSU, Science City of Munoz, Nueva Ecija, Philippines

PUNTOS CLAVE

- Al diagnosticar una gestación, se deben enfatizar los factores específicos de la gestación. En el pasado, se han utilizado los marcadores físicos mientras que los métodos basados en químicos se están desarrollando y mejorando en la actualidad.
- La acción es menos importante que el método.
- La acción es menos importante que el método. Todos los productores deben ser alentados para evaluar el estado de la gestación de su rebaño después de la temporada de cría

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de la gestación es una parte importante de la gestión reproductivo en operaciones ganaderas productivas y eficientes. El más antiguo, más simple y más definitivo método de comprobación de la gestación es esperar hasta que la vaca da a luz. En algunas granjas de pasatiempo y otras operaciones pequeñas, donde las biotecnologías no son a menudo adoptadas, esto todavía se hace. Con la tendencia hacia las granjas más eficientes y la inclusión de la inseminación artificial (IA) y otras tecnologías reproductivas en la producción de ganado, la falta de un diagnóstico de la gestación ya puede no ser económicamente viable o práctico. Mantener una vaca no preñada en la granja durante un año entero tiene consecuencias económicas negativas porque ella acumula el mismo coste de una vaca embarazada sin producir nada. Al establecer un programa de diagnóstico de la gestación en la granja para detectar las vacas que no están en gestación, los animales "problemáticos", y permite al productor tomar decisiones relacionadas con la gestión para aumentar la eficiencia reproductiva.

La prueba de la gestación ideal debe tener una alta sensibilidad (es decir, identificar correctamente a las hembras gestantes), alta especificidad (es decir, identificar correctamente a los animales no preñados), y ser simple y económica de realizar bajo condiciones de campo. Las pruebas que proporcionan información adicional como, por ejemplo, viabilidad embrionaria o fetal y el sexo del feto, son cada vez más beneficiosas. Existen dos categorías de pruebas de detección de la gestación: directa e indirecta. Los métodos directos permiten que se sienta o se vea la gestación mientras que los métodos indirectos se basan en los marcadores que indican la presencia de una gestación. La palpación rectal y la ecografía son los métodos más ampliamente utilizados, métodos directos para los diagnósticos precoces de la gestación. Ambas técnicas son eficaces, pero requieren un técnico capacitado, instrumentos específicos y proporcionar la información estática sobre el estado de la gestación en el momento específico del diagnóstico. En algunas zonas, la asistencia veterinaria es limitada y son necesarios enfoques alternativos de detección de la gestación. Las investigaciones recientes han tenido como objetivo desarrollar métodos indirectos de diagnóstico de la gestación que usen medidas cualitativas o cuantitativas de hormonas o sustancias específicas de la concepción en los fluidos corporales de la madre como indicadores de una gestación viable. Se han estudiado una serie de moléculas / marcadores asociados con la gestación en el ganado, incluido el factor precoz de la gestación (EPF), genes estimulados con interferón (ISG), progesterona y glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG), para el uso específico del diagnóstico precoz de la gestación en bovinos.

En el pasado: los fundamentos del diagnóstico de la gestación

Detección de Estro.

El método más simple y más temprano de detección de la gestación es la observación del estro después de la IA o servicio natural. Alrededor de 15 a 17 días después de la ovulación, los embriones bovinos señalan su presencia en el entorno materno, suspendiendo el ciclo estral materno, manteniendo el cuerpo lúteo y la producción de progesterona. Por lo tanto, si una vaca no vuelve al estro en un periodo de 18 a 24 días después del parto, se da por supuesto que ha tenido lugar la concepción (Zemjanis, 1969). Aunque la observación es un método simple que no requiere habilidades especiales o instrumentos hay muchos factores que limitan su precisión. Por ejemplo, la desnutrición o la lactancia son causas comunes del anestro (falta de ciclo) en las vacas de carne. Los productores pueden observar que sólo unas pocas vacas vuelven al estro después de las primeras semanas de la temporada de cría y pueden estar engañados al creer que las vacas han quedado embarazadas cuando son, en realidad, no están ciclando. Si se utiliza el método de observación para la detección de la gestación es importante estar adecuadamente capacitado para reconocer el comportamiento del estro, existen algunas tecnologías disponibles en el mercado, tales como parches de calor, pinturas o tizas, que puede ayudar a marcar visualmente las vacas que fueron montados, la principal señal de comportamiento estral.

Palpación rectal

El deseo de un preciso diagnóstico de la gestación condujo al uso rutinario de la palpación rectal del contenido uterino. Aunque tradicionalmente no son examinadas antes de 40 a 60 días de gestación, dependiendo de la habilidad del examinador y la edad y el tamaño del animal, el diagnóstico de la gestación puede realizarse tan pronto como el día 30 y puede ser utilizada con posterioridad hasta el término. Debido a una serie de cambios en el tamaño, la textura, la ubicación y el contenido del útero durante el la gestación, el examinador debe encontrar al menos uno de estos cuatro signos antes de declarar la vaca en gestación: la palpación de la vesícula amniótica, el deslizamiento de la membrana fetal, placentomes (cotiledones y carúncula) o el feto (Zemjanis, 1962). La palpación rectal permite también estimaciones de la embrionaria/edad fetal y la detección de estructuras de cáncer de ovario como un cuerpo lúteo o folículo.

Se han publicado pruebas contradictorias sobre el efecto de la palpación rectal para diagnóstico de la gestación en el embrión o feto. Algunos autores sugieren que había poco o ningún efecto sobre la pérdida de la gestación, (Thurmond and Picanso, 1993; Thompson *et al.*, 1994; Alexander *et al.*, 1995; Romano *et al.*, 2007; Romano *et al.*, 2016) mientras que otros informes sugieren que la palpación rectal durante los primeros meses de gestación, contribuyó al aumento de las pérdidas de gestación(Paisley, 1978; Franco *et al.*, 1987). A la luz de la información disponible actualmente, parece razonable concluir que la incidencia de muerte fetal debida a la manipulación del útero es baja y el valor de la información obtenida es mayor que el riesgo de pérdida fetal (Abbitt *et al.*, 1978; Paisley, 1978; Vaillancourt *et al.*, 1979; Alexander *et al.*, 1995). Sin embargo, los clínicos y los productores deben ser conscientes de los posibles efectos negativos asociados con este método en las gestaciones precoces y realizar exámenes meticulosamente, con cautela y con conciencia.

Métodos de detección directa de la gestación actuales

La ecografía

La adopción de la ecografía transrectal en tiempo real representa un avance significativo en el estudio de la reproducción bovina. Es una valiosa herramienta para la producción, la investigación, los veterinarios y productores de campo que permite la detección de la gestación tan pronto como a los 25 días de gestación. El estado de la gestación, el sexo del feto, la función ovárica y morfología uterina pueden evaluarse con el uso ultrasonidos. El latido cardíaco fetal puede detectarse en aproximadamente 21 días en el ganado (Kastelic *et al.*, 1988), pero es más fácilmente detectado después del día 25 de gestación y es el "estándar de oro" para la prueba de la presencia de un conceptus viable junto con exámenes morfológicos uterinos y mediciones de embriones (longitud de la grupa de la corona). La muerte del embrión puede ser claramente diagnosticadas por latido no detectable, desprendimiento de membrana/desorganización, una reducida cantidad de líquido intrauterino o reflejando estructuras flotantes, incluyendo restos del concebido (Lopez-Gatius F.; Garcia-Ispierto, 2010). La desventaja es que la precisión de los ultrasonidos es limitada antes de 28-30 días de gestación y el estado de la gestación sólo se garantiza en el momento del diagnóstico, a diferencia de algunas pruebas químicas (es decir, PAGs) que han sido estudiadas como posibles predictores del mantenimiento de la gestación.

La ecografía Doppler

La incorporación de nuevas tecnologías, tales como ultrasonido Doppler, permiten una evaluación más detallada del Útero, folículos ováricos y cuerpo lúteo. El modo de color de flujo (CFM) permite la visualización del flujo sanguíneo en los tejidos y estructuras basadas en los principios del efecto Doppler (Singh *et al.*, 2003; Ginther, 2007; Matsui and Miyamoto, 2009) e indirectamente permite hacer inferencias sobre el estado funcional de los tejidos (Herzog *et al.*, 2010).

El establecimiento y mantenimiento de la gestación en el ganado depende de la presencia de un cuerpo lúteo activo funcional (CL) y la producción de un nivel suficiente de progesterona (P4; (Mann, 1999; Lucy, 2001; Parr *et al.*, 2012). Por lo tanto, la medición del flujo de sangre hacia el CL puede ser útil para un diagnóstico precoz de la gestación más preciso en el ganado especialmente si se realiza a los 19 a 21 días de gestación (Matsui and Miyamoto, 2009; Quintela *et al.*, 2012). Siqueira *et al.* (2013) evaluaron la eficacia de la ecografía Doppler como un método de detección temprana de la gestación. Este estudio demostró que la evaluación visual de CL el flujo sanguíneo ofreció un 98,5% de exactitud en la predicción de las mujeres no embarazadas en 20 días después IATF y 64,8% en la predicción de las embarazadas, pero la experiencia del operador y la definición de criterios claros para diagnósticos positivos y negativos son de gran importancia para el éxito de los resultados.

Los métodos químicos de diagnóstico de la gestación

Las pruebas de gestación químicas son atractivas para los productores por muchas razones, incluyendo el diagnóstico precoz de las hembras no gestantes y la facilidad de la prueba. Sin embargo, la efectividad de las distintas pruebas químicas varía considerablemente según el biomarcador utilizado para su diagnóstico. Ha habido un número de marcadores investigados como posibles métodos de detección de la gestación: la progesterona, genes estimulados con interferón (ISGs), factor de embarazo precoz (EPF) y glicoproteínas asociadas a la gestación (PAGs). Una consideración importante es si el marcador es específico de la gestación, significando que solamente es producido por un animal gestante, o específico de los no-gestantes, que se puede producir bajo otras condiciones fisiológicas.

Marcadores específicos de no gestantes

Uno de los más comunes, pruebas específicas para descartar la gestación utiliza la progesterona, una hormona esteroide producida por el cuerpo lúteo (CL) para mantener la gestación. Sin embargo, una gran desventaja que limita su uso como un método de detección de la gestación es que se produce durante el ciclo estral normal de la vaca, concretamente durante la fase lútea. Esto limita el uso de progesterona como método de detección de la gestación a pocos días entre la regresión del CL y la formación de un nuevo CL después de la ovulación. El principal problema con la prueba de progesterona es la prevalencia de falsos positivos, que identifican una vaca no preñada como embarazada. Según una serie de estudios realizados en la década de 1980, el diagnóstico positivo de la gestación osciló entre el 60-100% de progesterona en la leche, sin embargo, la detección de animales no preñadas variaba entre el 81-100% (Nebel *et al.*, 1987; Sasser and Ruder, 1987; Nebel, 1988). El diagnóstico de la gestación por progesterona no ha sido adoptado extensamente en la investigación o la producción agrícola debido a estas incongruencias.

El factor de la gestación precoz (EPF) fue inicialmente un candidato muy popular como prueba de diagnóstico de la gestación debido a su objetivo de tiempo de muestreo de 2-7 días después de la concepción. En el ganado vacuno, el Fondo está pensado para suprimir el sistema inmune materno y prepararse para la implantación uterina, comenzando 48 horas después de la cría (Morton, 1998; Cordoba *et al.*, 2001). Al igual que la progesterona, las pruebas comerciales de EPF no son fiables en la identificación de los animales no gestantes lo que limita su uso en la detección de la gestación. Combinado con la alta incidencia de la pérdida de un embrión que se produce después del día 2 de la gestación, la EPF no se considera generalmente como una opción para el diagnóstico de la gestación en el ganado.

Durante el desarrollo embrionario, es esencial que el embrión secrete las señales apropiadas en el momento correcto para el ambiente materno con el fin de establecer el éxito de la gestación. En el ganado vacuno, el interferón tau (INFT) es el reconocimiento maternal de la gestación y la señal se produce alrededor del día 15 al 17 de gestación. Debido a la dificultad

para evaluar directamente el INFT, la investigación se ha centrado en la respuesta de los leucocitos al INFT que expresan el aumento de genes estimulados por interferón (ISGs). Los genes incluidos ISG15, Mx1 Y MX2 son más abundantes en las muestras de sangre de las vacas embarazadas en comparación con las vacas no gestantes (Han *et al.*, 2006; Gifford *et al.*, 2007). Sin embargo, las infecciones virales pueden aumentar el establecimiento de datos que conducen a resultados positivos falsos, ya que las ISGs no son específicas de la gestación (Yang *et al.*, 2010; Weng *et al.*, 2015). La respuesta de los ISGs es más prominente en las novillas que en las vacas que tienen respuestas altamente variables, que contribuyen a su eficacia en el diagnóstico de la gestación (Green *et al.*, 2010). A pesar de los retos de dar un diagnóstico positivo de la gestación, las ISGs son eficaces en la identificación de las vacas no preñadas, lo cual puede ser útil en algunas situaciones. No hay ninguna prueba comercial de la gestación que utilice este marcador, sólo laboratorios de investigación mediante PCR cuantitativa. En general, los marcadores específicos de no gestación disponibles no proporcionan una herramienta fiable para el diagnóstico específico de la gestación.

Marcadores Específicos de la Gestación

Las glicoproteínas asociadas a la gestación (PAGs) fueron identificadas por los investigadores que buscaban un marcador específico de la gestación que pudiera ser utilizado para el diagnóstico de la gestación en el ganado. Mientras que los PAGs han demostrado ser marcadores fiables de la gestación, su papel fisiológico es desconocido aunque se ha presumido que los PAGs pueden ayudar a los factores del proceso de crecimiento encontrados en la interfaz placentaria-uterina o ayudar con acciones de adherencia entre el útero y la placenta. (Wallace *et al.*, 2015). Producidos por las células trofoblásticas binucleares de la placenta, los PAGs se introducen en la circulación materna tan pronto como a los 22 días de gestación y alcanzan niveles considerados aceptables en la actualidad para determinar con precisión el diagnóstico de la gestación en el día 28.

La proteína específica de la gestación B (PSPB) o PAG-1 fue el primer miembro de la familia PAG identificado, una familia que abarca más de 20 proteínas individuales y dos docenas de genes. El descubrimiento de PAG-1 condujo al desarrollo de un radioinmunoanálisis (RIA) para la detección de los PAG y la validación de estudio llegó a la conclusión de que eran PAGs secretada en el sistema materno y eran exclusivos para las hembras gestantes. Algunos test de gestaciones comerciales basados en los PAG aún utilizan el PAG-1 como un PAG objetivo. Un estudio de Green *et al.* (2005) ha validado un ELISA que va específicamente dirigido al PAGs secretado en las primeras etapas de la gestación que tenía una vida media más corta (4,3 días contra 8,4 días) que los anteriores objetivos para reducir el potencial de falsos positivos en el postparto de las vacas (Zoli *et al.*, 1992; N. M. de Sousa *et al.*, 2003; Green *et al.*, 2005). El ELISA fue capaz de detectar vacas gestantes o no-gestantes mediante los PAGs a los 28 días de la inseminación. Los estudios que comparan la eficacia de la ELISA PAG, RIA PAG, y la ecografía transrectal revelaron resultados comparables para el diagnóstico de la gestación en el ganado a los 28 días de gestación, aunque se identificaron algunas diferencias en la capacidad de ciertas pruebas para detectar a los animales no-gestantes (Szenci *et al.*, 1998; Karen *et al.*, 2015). Hoy, las pruebas comerciales de PAG son extremadamente precisas y proporcionan un 98 a 99% de verdaderos positivos (gestantes) mientras que los falsos positivos (registrados como gestantes cuando en realidad no los son) son del 1-5%; sin embargo, algunos falsos positivos pueden deberse a la mortalidad embrionaria. Las pruebas disponibles en la actualidad incluyen BioPRYN (BioTracking LLC. Moscow, ID USA), IDEXX Bovine pregnancy test (IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, ME USA) y la DG29 pregnancy test (Genex Cooperative Inc. Shawano, WI USA). El BioPRYN acepta muestras de sangre de novillas a los 25 días posteriores a la copula y de vacas a los 28 días después de la copula, el IDEXX recomienda muestras de sangre o leche del día 28, y la DG29 ha sido aprobada para utilizar muestras de sangre del día 29.

El futuro del diagnóstico de la gestación

Los microRNAs circulantes

Uno de los candidatos más prometedores en la búsqueda de un biomarcador de fácil acceso para el diagnóstico de la gestación son los microRNAs (miRNA) circulantes. Entre 18 y 22 nucleótidos de longitud, los MiRNA juegan roles importantes en la regulación de la expresión génica y se han encontrado en fluidos biológicos que van desde el suero y el líquido amniótico a la orina y la leche (Reid *et al.*, 2011; Pohler *et al.*, 2015). Los MicroRNAs son liberados desde las células de la mayoría de los tipos de tejido en la membrana plasmática dependientes de vesículas extracelulares (Parr *et al.*, 2012), específicamente exosomes. Los MicroRNAs son utilizados para evaluar muchos sistemas fisiológicos, en particular la investigación de enfermedades, desde el cáncer hasta enfermedades del corazón y muchos otros. La evidencia indica que los miRNAs específicos en suero materno pueden tener un impacto en la expresión y regulación de los genes que les identifica como potenciales biomarcadores de la gestación. Los estudios han identificado las miRNAs producidos por los animales gestantes en caballos, ovejas y ganado (Cameron *et al.*, 2011; Burns *et al.*, 2014; Pohler *et al.*, 2016). Un estudio reciente de Fiandanese *et al.* (2016) identificó un potencial miRNA, el BTA-mir 140, como un biomarcador para la detección temprana de la gestación. En el día 13, BTA-mir 140 aumentó en abundancia en circulación de vacas embarazadas no lactantes y en el día 19 se controló tanto en las vacas lactantes y vacas gestantes no-lactantes. Varios grupos, incluyendo nuestro laboratorio, han identificado miRNAs específicos regulados diferencialmente en embarazadas versus no embarazadas. Sin embargo, se necesita investigación adicional para identificar determinados miRNA más eficaces para el diagnóstico de la gestación, así como los métodos de detección.

Diagnóstico de Gestación temprana

La investigación en el diagnóstico de las gestaciones tempranas se centra en dos áreas: aumento de la sensibilidad de los ensayos y métodos actuales y nuevos marcadores de detección de la gestación. Mientras las pruebas PAG se limitan al periodo de tiempo de disponibilidad fisiológica (no antes del día 17), un estudio reciente en novillas lecheras sometidas a la transferencia de embriones ha mostrado potencial para una prueba de la gestación a los 24 días (Reese *et al.*, 2016). Concentraciones de suero PAG superiores a 1,39 ng/mL en el día 24 obtuvieron el 95% de exactitud en el diagnóstico de una novilla embarazada. Sin embargo, las novillas tienen una mayor concentración de PAG de vacas maduras y la investigación reciente predice que la tasa de mortalidad embrionaria entre el día 24 y 30 puede ser mayor que el previsto inicialmente (Pohler *et al.*, 2016). Así, la diagnosis temprana de la gestación usando PAGs es posible; sin embargo, se necesita más trabajo en este campo para refinar métodos y ensayos de detección.

Pronostico de la pérdida de un embrión

La capacidad de predecir y detectar la pérdida o fracaso de

una gestación es la próxima frontera en el diagnóstico de la gestación. Tanto los datos de PAG como de Mirna sugieren que la pérdida del embrión se puede predecir usando estos biomarcadores. Los estudios recientes de las pruebas PAG han demostrado una correlación fuerte entre las gestaciones exitosas y las concentraciones séricas elevadas de PAG en las primeras etapas de la gestación. En comparación con las concentraciones de progesterona, que no exhiben ninguna diferencia entre las novillas y vacas que sufren de mortalidad embrionaria y aquellos que mantienen la gestación, las concentraciones de PAGs son significativamente diferentes entre los dos grupos (Reese *et al.*, 2016). En un estudio realizado por Pohler *et al.* (2013), las vacas que mantuvieron la gestación tenían una concentración significativamente mayor de PAGs en suero que las vacas que sufrieron la pérdida de una gestación después de que un latido fetal viable fuera detectado en el día 28. Las concentraciones séricas aumentan a medida que la probabilidad de que la tasa de mortalidad embrionaria disminuye. En un estudio más reciente, la tasa de mortalidad embrionaria tardía fue pronosticada con un 95% de precisión si los niveles PAG eran inferiores a 1,4 ng/ml en el día 31 después de la inseminación artificial puntual (Pohler *et al.*, 2016).

Los datos preliminares de nuestro laboratorio sugieren miRNA puede proporcionar información adicional acerca de la viabilidad embrionaria. Las vacas que experimentan mortalidad embrionaria tienen una probabilidad significativamente mayor de una abundancia de miRNAs específicos en los días 17 y 24 de gestación comparado a las vacas que tienen una gestación exitosa. Serán necesarios estudios futuros para evaluar la repetibilidad de estos resultados y determinar con precisión miRNA más aplicable para análisis de viabilidad embrionaria.

Aplicaciones prácticas

Aunque la investigación actual tiene como objetivo desarrollar métodos anteriores de diagnóstico de la gestación en el ganado, hay productores que no evalúan regularmente el estado de la gestación de su rebaño de ninguna manera. De acuerdo con las prácticas de gestión de vacas-terneras de USDA en 2008, sólo el 20% de los productores de carne de vacuno de Estados Unidos evalúan la situación de la gestación de sus vacas, el 18% usan la palpación y sólo el 2,2% utiliza el ultrasonido para el diagnóstico de la gestación. Alrededor del 38% de los productores dicen que el trabajo/tiempo es el principal obstáculo que les impide diagnosticar la gestación en su rebaño, otro 16% cree que es demasiado complicado, otros culpan el costo, la falta de facilidades o creen que no funciona. La evaluación de la gestación en un rebaño es un componente esencial de una operación eficiente, necesaria para tomar decisiones de gestión y minimizar el desperdicio de recursos en vacas improductivas. Independientemente del método elegido, un productor que conoce la situación de gestación de sus vacas será mejor que un productor que no lo hace.

Hay muchos factores importantes a considerar al implementar un programa de detección de la gestación. La sincronización es el primero. Diagnosticar la gestación temprana (2 a 10 días) puede proporcionar resultados decepcionantes pues algunas vacas diagnosticadas como gestantes resultarán no estar en gestación más adelante debido a la mortalidad del embrión que ocurre dentro de los primeros 30-45 días de gestación. La mayoría de la pérdidas de un embrión se produce antes de que la placenta está completamente formada en aproximadamente 60 días de gestación (Santos *et al.*, 2004). El diagnóstico de la gestación que se produce después del día 70 es más preciso en comparación con el índice final del parto. Sin embargo, puede ser demasiado tarde en la estación de la cría para que las vacas no-gestantes se queden embarazadas de nuevo.

Tabla 1 - Ventajas y desventajas para los tres métodos de prueba de la gestación

	Ventajas y desventajas para los tres métodos de prueba de la gestación					
	¿Cuándo se puede detectar la gestación?	Edad del ternero	Sexo del ternero	¿Es necesario un Técnico experimentado?	Coste/ vaca	Cuando se conocieron los resultados
La palpación	35-50 días	Yes	No	Yes	$3-$10	Inmediatamente
Ultrasonido	30 días	Yes	Potencialmente	Yes	$7-$15	Inmediatamente
Prueba de sangre (PAG)	28-30 días	No	No	No	$3-$5	1-4 días

Cada método de diagnóstico de la gestación tiene complicaciones en su uso y puede no ser el que mejor se adapte a cada entorno de producción. El ultrasonido transrectal puede detectar una gestación tan pronto como a los 28 días después de la IA; sin embargo, esta técnica requiere de un técnico cualificado o veterinario, y puede requerir un diagnóstico adicional alrededor del día 60 de gestación. La palpación transrectal o ensayo PAG sobre el día 60 de gestación puede detectar la pérdida de un embrión y proporcionar una mejor estimación de la tasa de parto. Estos dos factores aumentan el coste de diagnóstico por ultrasonido de la gestación. La palpación transrectal puede ser más rentable; sin embargo, el diagnóstico preciso, incluso por un técnico capacitado está limitado antes del día 45 de gestación.

Las pruebas PAG tienen una ventaja significativa entre varios exámenes de sangre disponibles para el diagnóstico, ya que es específica de la gestación. A partir de una simple muestra de sangre o leche tomada el día 28-30, los productores pueden conocer el estado de la gestación en 2-4 días por un coste de alrededor de US $3.00. Las pruebas basadas en químicos pueden ser una buena opción para muchos productores debido al bajo coste, al muestreo de la gestación temprana y a la facilidad de la recolección de la sangre o de la leche.

Aunque la prueba PAG en el día 28 puede tener menor precisión que la ecografía transrectal, se puede eliminar alguna discrepancia cuando se registran las tasas de parto final. Algunas pruebas de PAG en suero pueden predecir la pérdida embrionaria tardía, mientras que la ecografía no puede. Cuando un latido del corazón de un embrión se ve en una ecografía, no hay ninguna indicación de si o no se producirá la mortalidad embrionaria. Por otro lado, las vacas que aparecieron embarazadas en la ecografía pero que posteriormente experimentarán la mortalidad embrionaria a menudo se muestran como no embarazadas en las pruebas de la PAG sérica. El diagnóstico de gestación utilizando PAGs prevé más exactamente la tasa de parto.

CONCLUSIONES

Esperar al final de la estación de cría para determinar la tasa de gestación no es económicamente viable; sin embargo, un porcentaje muy limitado de productores de carne de vacuno de Estados Unidos evalúan la situación de gestación de su rebaño. El diagnóstico precoz de la gestación es muy importante para detectar vacas no gestantes tan pronto como sea posible. Existen diferentes pruebas y métodos disponibles para

proporcionar información de diagnóstico. La elección de un método depende enteramente de lo que encaja en el sistema de producción agrícola. En el futuro, esperamos que una prueba de gestación basada en la sangre se haga más popular gracias a su precisión y habilidad para predecir las pérdidas de embriones. A medida que la tecnología se desarrolla, los resultados de las pruebas de gestación basadas en la sangre estarán disponibles en minutos, a un coste relativamente bajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbitt, B. *et al.* 1978. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. J Am Vet Med Assoc 173: 973-977.
- Alexander, B. M. *et al.* 1995. Embryonic loss from 30 to 60 days post breeding and the effect of palpation per rectum on pregnancy. Theriogenology 43: 551-556.
- Burns, G. *et al.* 2014. Extracellular vesicles in luminal fluid of the ovine uterus. PLoS One 9: e90913.
- Cameron, A., J. C. da Silveira, G. Bouma, and J. E. Bruemmer. 2011. Evaluation of exosomes containing miRNA as an indicator of pregnancy status in the mare. Journal of Equine Veterinary Science 31: 2.
- Cordoba, M. C., R. Sartori, and P. M. Fricke. 2001. Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. J Dairy Sci 84: 1884-1889.
- de Sousa, N. M. *et al.* 2003. Pregnancy-associated glycoprotein concentrations during pregnancy and the postpartum period in Azawak Zebu cattle. Theriogenology 59: 11.
- Fiandanese, N. *et al.* 2016. Circulating microRNAs as potential biomarkers of early pregnancy in high producing dairy cows Proc. International Embryo Technology Society. p 165, Louisville, KY.
- Franco, O. J., M. Drost, M. J. Thatcher, V. M. Shille, and W. W. Thatcher. 1987. Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. Theriogenology 27: 631-644.
- Gifford, C. A. *et al.* 2007. Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. J Dairy Sci 90: 274-280.
- Ginther, O. J. 2007. Ultrasonic imaging and animal reproduction: color-Doppler ultrasonography. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI.
- Green, J., C. Okamura, S. Poock, and M. Lucy. 2010. Measurement of interferon-tau (IFN-ტ) stimulated gene expression in blood leukocytes for pregnancy diagnosis within 18–20d after insemination in dairy cattle. Animal reproduction science 121: 24-33.
- Green, J. A. *et al.* 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.
- Han, H., K. J. Austin, L. A. Rempel, and T. R. Hansen. 2006. Low blood ISG15 mRNA and progesterone levels are predictive of non-pregnant dairy cows. J Endocrinol 191: 505-512.
- Herzog, K. *et al.* 2010. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. Theriogenology 73: 691-697.
- Karen, A. *et al.* 2015. Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Anim Reprod Sci 159: 31-37.
- Kastelic, J. P., R. A. Pierson, S. Curran, and O. J. Ginther. 1988. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. Theriogenology 29: 16.
- Lopez-Gatius F.; Garcia-Ispierto, I. 2010. Ultrasound and endocrine findings that help to assess the risk of late embryo/early foetal loss by non-infectious cause in dairy cattle. Reprod Domest Anim 45: 9.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J Dairy Sci 84: 1277-1293.
- Mann, G. E., Lamming, G. E. 1999. Influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod Domest Anim 34: 6.
- Matsui, M., and A. Miyamoto. 2009. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. Vet J 181: 232-240.
- Morton, H. 1998. Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue. Immunol Cell Biol 76: 483-496.
- Nebel, R. L. 1988. On-farm milk progesterone tests. J Dairy Sci 71: 1682-1690.
- Nebel, R. L., W. D. Whittier, B. G. Cassell, and J. H. Britt. 1987. Comparison of on-farm laboratory milk progesterone assays for identifying errors in detection of estrus and diagnosis of pregnancy. J Dairy Sci 70: 1471-1476.
- Paisley, L. G., Mickelson, W. D., Trost, O. L. 1978. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. Theriogenology 9: 11.
- Parr, M. H. *et al.* 2012. Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. J Dairy Sci 95: 2390-2396.
- Pohler, K. G. *et al.* 2013. Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows. J Anim Sci 91: 4158-4167.
- Pohler, K. G. *et al.* 2015. Predicting Embryo Presence and Viability. Adv Anat Embryol Cell Biol 216: 253-270.
- Pohler, K. G. *et al.* 2016. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. J Dairy Sci 99: 1584-1594.
- Quintela, L. A. *et al.* 2012. Use of ultrasound in the reproductive management of dairy cattle. Reprod Domest Anim 47 Suppl 3: 34-44.
- Reese, S. T., M. C. Pereira, J. L. Vasconcelos, and K. G. Pohler. 2016. Pregnancy Associated Glycoprotein (PAG) concentrations in early gestation from dairy heifers undergoing embryo transfer ASAS- ADAS Joint Annual Meeting, Salt Lake City, Utah.
- Reid, G., M. B. Kirschner, and N. van Zandwijk. 2011. Circulating microRNAs: Association with disease and potential use as biomarkers. Crit Rev Oncol Hematol 80: 193-208.

- Romano, J. E., K. Bryan, R. S. Ramos, J. Velez, and P. Pinedo. 2016. Effect of early pregnancy diagnosis by per rectum amniotic sac palpation on pregnancy loss, calving rates, and abnormalities in newborn dairy calves. Theriogenology 85: 419-427.
- Romano, J. E. *et al.* 2007. Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. Theriogenology 67: 486-493.
- Santos, J. E., W. W. Thatcher, R. C. Chebel, R. L. Cerri, and K. N. Galvao. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Anim Reprod Sci 82-83: 513-535.
- Sasser, R. G., and C. A. Ruder. 1987. Detection of early pregnancy in domestic ruminants. J Reprod Fertil Suppl 34: 261-271.
- Singh, J., G. P. Adams, and R. A. Pierson. 2003. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. Anim Reprod Sci 78: 371-399.
- Siqueira, L. G. *et al.* 2013. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. J Dairy Sci 96: 6461-6472.
- Szenci, O. *et al.* 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology 50: 77-88.
- Thompson, J. A. *et al.* 1994. Pregnancy attrition associated with pregnancy testing by rectal palpation. J Dairy Sci 77: 3382-3387.
- Thurmond, M. C., and J. P. Picanso. 1993. Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. J Am Vet Med Assoc 203: 432-435.
- Vaillancourt, D. *et al.* 1979. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. J Am Vet Med Assoc 175: 466-468.
- Wallace, R. M., K. G. Pohler, M. F. Smith, and J. A. Green. 2015. Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. Reproduction 149: R115-126.
- Weng, X. G. *et al.* 2015. Genetic characterization of bovine viral diarrhea virus strains in Beijing, China and innate immune responses of peripheral blood mononuclear cells in persistently infected dairy cattle. Journal of veterinary science 16: 491-500.
- Yang, L. *et al.* 2010. Up-regulation of expression of interferon-stimulated gene 15 in the bovine corpus luteum during early pregnancy. Journal of dairy science 93: 1000-1011.
- Zemjanis, R. 1962. Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction. The Williams and Wilikins Company, Baltimore, MD.
- Zemjanis, R. F., M.; Schultz, R.H. 1969. Anestrus: the practitioner's dilemma. Vet Scope: 1.
- Zoli, A. P., L. A. Guilbault, P. Delahaut, W. B. Ortiz, and J. F. Beckers. 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. Biol Reprod 46: 83-92.

ENGLISH VERSION

Pregnancy diagnosis: Past, present and future

K. G. Pohler, G. A. Franco, S.T. Reese, F. G. Dantas, S. L. Speckhart, T. B. Ault, R. V. Oliveira, T. S. Maia, A. P. O. Santos [1], A.B. Pollock[1], E.C. Atabay

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX

Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN

Philippine Carabao Center, CLSU, Science City of Munoz, Nueva Ecija, Philippines

KEY POINTS

- When diagnosing pregnancy, pregnancy specific factors should be emphasized. In the past, physical markers have been utilized while chemical based methods are currently being developed and improved upon
- Action is less important than method. All producers should be encouraged to assess the pregnancy status of their herd after the breeding season

INTRODUCTION

Pregnancy diagnosis is an important part of reproductive management in productive and efficient cattle operations. The oldest, simplest and most definitive method of pregnancy check is to wait until the cow gives birth. At some hobby farms and other small operations, where biotechnologies are not often adopted, this is still done. With the move towards more efficient farms and inclusion of artificial insemination (AI) and other reproductive technologies in cattle production, abstaining from pregnancy diagnosis may no longer be economically viable or practical anymore. Keeping a non-pregnant cow on the farm for an entire year has negative economic implications because she accrues the same cost of a pregnant cow without producing anything. Establishing a pregnancy diagnosis program on the farm detects cows that are not pregnant, the "problem animals," and allows the producer to make management decisions to increase reproduction efficiency.

The ideal pregnancy test should have high sensitivity (i.e., correctly identify pregnant animals), high specificity (i.e., correctly identify non pregnant animals), and be simple and inexpensive to conduct under field conditions. Tests that provide additional information, such as embryonic or fetal viability and sex of the fetus, are increasingly beneficial. There are two categories of pregnancy detection tests: direct and indirect. Direct methods allow the pregnancy to be felt or seen while indirect methods rely on markers that indicate the presence of a pregnancy. Rectal palpation and ultrasonography are the most widely used, direct methods for early pregnancy diagnoses. Both techniques are efficient but require a skilled technician, specific instruments and provide static information on pregnancy status at the specific moment of diagnosis. In some areas, veterinary support is limited and alternative approaches of pregnancy detection are needed. Recent research has aimed to develop indirect methods of pregnancy diagnoses that use qualitative or quantitative measures of hormones or conceptus-specific substances in maternal body fluids as indicators of a viable pregnancy. A series of molecules/markers associated with pregnancy in cattle including early pregnancy factor (EPF), interferon-stimulated genes (ISGs), progesterone, and pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) have been studied

for the specific use of early pregnancy diagnosis in cattle.

In the past: the foundation of pregnancy diagnosis

Estrus detection

The simplest and earliest method of pregnancy detection is observation of estrus after AI or natural service. Around 15 to 17 days after ovulation, bovine embryos signal their presence to the maternal environment, suspending the maternal estrous cycle, maintaining the corpus luteum and production of progesterone. Thus, if a cow does not return to estrus 18 to 24 days after breeding, it is suggested that conception has occurred (Zemjanis, 1969). Although observation is a simple method that does not require specialized skill or instruments, there are many factors that limit its accuracy. For example, undernutrition or lactation are both common causes of beef cows being anestrus (failure to cycle). Producers may observe only a few cows return to estrus after the first few weeks of the breeding season and may be misled to believe cows have become pregnant when they are, in fact, not cycling. If utilizing the observation method for pregnancy detection it is important to be properly trained to recognize estrus behavior, there are some technologies available on the market, such as heat patches, paints or chalks, that can help visually mark cows that were mounted, the principal signal of estrus behavior.

Rectal palpation

The desire for an accurate pregnancy diagnosis led to the routine use of rectal palpation of the uterine contents. Although traditionally examined no earlier than 40 to 60 days of gestation, depending upon the skill of the examiner and the age and size of the dam, pregnancy diagnosis can be performed as early as day 30 and can be utilized thereafter until term. Due to a number of changes in the size, texture, location, and content of the uterus during pregnancy, the examiner must find at least one of these four signs before declaring the cow pregnant: palpation of the amniotic vesicle, the fetal membrane slip, placentomes (cotyledons and caruncles) or the fetus (Zemjanis, 1962). Rectal palpation also allows for estimates of the embryonic/fetal age and detection of ovarian structures such as a corpus luteum or follicle.

Conflicting evidence has been published regarding the effect of rectal palpation for pregnancy diagnosis on the embryo/fetus. Some authors suggest that it had little or no effect on pregnancy loss (Thurmond and Picanso, 1993; Thompson *et al.*, 1994; Alexander *et al.*, 1995; Romano *et al.*, 2007; Romano *et al.*, 2016) while other reports suggest that rectal palpation during early gestation increased pregnancy loss (Paisley, 1978; Franco *et al.*, 1987). In light of the information currently available, it seems reasonable to conclude that the incidence of fetal death due to manipulation of the uterus is low and the value of the information gained is greater than the risk of fetal loss (Abbitt *et al.*, 1978; Paisley, 1978; Vaillancourt *et al.*, 1979; Alexander *et al.*, 1995). However, clinicians and producers must be aware of potential negative effects associated with this method on early pregnancies and conduct examinations meticulously, cautiously, and with awareness.

Current direct pregnancy detection methods

Ultrasonography

The adoption of transrectal real time ultrasonography represents a significant development in the study of bovine reproduction. It is a valuable tool for production, research, field veterinarians and producers that permits detection of pregnancy as early as 25 days of gestation. Pregnancy status, fetal sex, ovarian function and uterine morphology can all be assessed with the use of ultrasound. Fetal heartbeat can be detected at approximately day 21 in cattle (Kastelic *et al.*, 1988) but is more easily detected after day 25 of pregnancy and is the "gold standard" for proof of presence of a viable conceptus along with uterine morphological examinations and embryo measurements (crown rump length). Death of the embryo can be clearly diagnosed by no detectable heartbeat, membrane detachment/disorganization, reduced amount of intrauterine fluid or echoic floating structures, including remnants of the conceptus (Lopez-Gatius F.; Garcia-Ispierto, 2010). The disadvantage of ultrasound is that accuracy is limited before 28-30 days of gestation and pregnancy status is only guaranteed at the time of diagnosis, different from some chemical tests (i.e., PAGs) that have been studied as possible predictors of pregnancy maintenance.

Doppler ultrasonography

The incorporation of new ultrasound technologies, such as Doppler ultrasound, enable a more detailed assessment of the uterus, ovarian follicles, and corpus luteum. Color-flow mode (CFM) permits visualization of blood flow within tissues and structures based on the principles of the Doppler effect (Singh *et al.*, 2003; Ginther, 2007; Matsui and Miyamoto, 2009) and indirectly enables inferences to be made on the functional status of the tissue (Herzog *et al.*, 2010).

The establishment and maintenance of pregnancy in cattle is dependent on the presence of a functional, active corpus luteum (CL) and the production of a sufficient level of progesterone (P4; (Mann, 1999; Lucy, 2001; Parr *et al.*, 2012). Thus, measuring blood flow to the CL may be useful for a more accurate early diagnosis of pregnancy in cattle particularly if performed at 19 to 21 days of gestation (Matsui and Miyamoto, 2009; Quintela *et al.*, 2012). Siqueira *et al.* (2013) evaluated the efficacy of Doppler ultrasound as an early pregnancy detection method. This study showed that visual evaluation of CL blood flow offered 98.5% accuracy in predicting non-pregnant females at 20 days after TAI and 64.8% in predicting pregnant ones, but the operator's experience and definition of clear criteria for positive and negative diagnoses are of great importance for successful outcomes.

Chemical pregnancy diagnosis methods

Chemical based pregnancy tests are attractive to producers for many reasons, including earlier diagnosis of non-pregnant females and ease of testing. However, the effectiveness of individual chemical tests varies greatly based on the biomarker used for diagnosis. There have been a number of markers investigated as possible pregnancy detection methods: progesterone, interferon stimulated genes (ISGs), early pregnancy factor (EPF) and pregnancy associated glycoproteins (PAGs). One important consideration is whether the marker is pregnancy specific, meaning only produced by a pregnant animal, or non-pregnancy specific, which can be produced under other physiological conditions.

Non Pregnancy Specific Markers

One of the most common, non-pregnancy specific tests uses progesterone, a steroid hormone which is produced by the corpus luteum (CL) to maintain pregnancy. However, one major disadvantage that limits its use as a pregnancy detection method is that it is produced during the normal estrous cycle of the cow, specifically during the luteal phase. This limits progesterone use as a pregnancy detection method to just a few days between CL regression and formation of a new CL post ovulation. The major problem with progesterone testing

is the prevalence of false positives, identifying a non-pregnant cow as pregnant. According to a series of studies conducted in the 1980s, accurate positive pregnancy diagnosis varied between 60-100% for milk progesterone, however, detection of non-pregnant animals varied between 81-100% (Nebel *et al.*, 1987; Sasser and Ruder, 1987; Nebel, 1988). Progesterone pregnancy diagnosis has not been heavily adopted in research or production agriculture due to these inconsistencies.

Early pregnancy factor (EPF) was initially a popular candidate as a pregnancy diagnostic test due to its target sampling time of 2-7 days post conception. In cattle, EPF is thought to suppress the maternal immune system and prepare for uterine implantation beginning 48 hours after breeding (Morton, 1998; Cordoba *et al.*, 2001). Similar to progesterone, commercial EPF tests are unreliable at identifying non-pregnant animals which limits its use in pregnancy detection. Combined with the high incidence of embryonic loss that occurs after day 2 of gestation, EPF is generally regarded as not an option for pregnancy diagnosis in cattle.

During embryo development, it is critical that the embryo secrete the proper signals at the correct time to the maternal environment in order to successfully establish a pregnancy. In cattle, interferon tau (INFT) is the maternal recognition of pregnancy signal and occurs around day 15 to 17 of gestation. Due to the difficulty of directly assaying INFT, research has focused on the response of leukocytes to INFT which express increased interferon stimulated genes (ISGs). Genes including ISG15, Mx1 and Mx2 are more abundant in blood samples of pregnant cows compared to non-pregnant cows (Han *et al.*, 2006; Gifford *et al.*, 2007). However, viral infections can increase expression leading to false positive results, as ISGs are not pregnancy specific (Yang *et al.*, 2010; Weng *et al.*, 2015). Response of ISGs is more prominent in heifers than cows, which have highly variable responses, that contribute to its effectiveness in pregnancy diagnosis (Green *et al.*, 2010). Despite the challenges of positively diagnosing pregnancy, ISGs are effective at identifying non-pregnant cows which may be useful in some scenarios. There is no commercial pregnancy test utilizing this marker, only research labs using quantitative PCR. Overall, available non-pregnancy specific markers do not provide a reliable tool for specific, accurate pregnancy diagnosis.

Pregnancy Specific Markers

Pregnancy associated glycoproteins (PAGs) were identified by researchers looking for a pregnancy specific marker that could be used for pregnancy diagnosis in cattle. While PAGs have proven to be a reliable marker for pregnancy, their physiological role is unknown although it has been hypothesized that PAGs may help process growth factors found at the placental-uterine interface or assist with adhesion actions between the uterus and placenta (Wallace *et al.*, 2015). Produced by binucleate trophoblast cells of the placenta, PAGs enter the maternal circulation as early as day 22 to 24 and reach levels currently acceptable for accurate pregnancy diagnosis at day 28.

Pregnancy specific protein B (PSPB) or PAG-1 was the first identified member of the PAG family, which encompass more than 20 individual proteins and two dozen genes. The discovery of PAG-1 led to the development of a radioimmunoassay (RIA) for PAG detection and the validating study concluded that PAGs were secreted into the maternal system and were unique to pregnant animals. Some commercial PAG-based pregnancy diagnostic tests still utilize PAG-1 as a target PAG. A study by Green *et al.* (2005) validated an ELISA that specifically targeted PAGs secreted early in gestation that had a shorter half-life (4.3 days vs 8.4 days) than the previous targets to reduce the potential for false positives in postpartum cows (Zoli *et al.*, 1992; N. M. de Sousa *et al.*, 2003; Green *et al.*, 2005). The ELISA was demonstrated to detect pregnant or non-pregnant cows via PAGs at day 28 post insemination. Studies comparing the efficacy of the PAG ELISA, PAG RIA and transrectal ultrasonography revealed comparable results for the diagnosis of pregnancy in cattle at day 28 of gestation although some differences were identified in the ability of certain assays to detect non-pregnant animals (Szenci *et al.*, 1998; Karen *et al.*, 2015) . Today, commercial PAG testing is extremely accurate providing 98 to 99% true positive (pregnant) reading and false positive (reported as pregnant but actual non-pregnant) rates from 1-5%; however, some false positives may be due to embryonic mortality. Tests currently available include BioPRYN (BioTracking LLC. Moscow, ID USA), IDEXX Bovine pregnancy test (IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, ME USA) and DG29 pregnancy test (Genex Cooperative Inc. Shawano, WI USA). BioPRYN accepts blood samples from heifers 25 days post breeding and cows 28 days post breeding, IDEXX recommends day 28 blood or milk samples and DG29 has been validated using day 29 blood samples.

The future of pregnancy diagnosis

Circulating microRNAs

One of the most promising candidates in the search for an easily accessible biomarker for pregnancy diagnosis is circulating microRNAs (miRNA). Between 18 to 22 nucleotides in length, miRNAs play important roles in regulation of gene expression and have been found in biological fluids ranging from serum and amniotic fluid to urine and milk (Reid *et al.*, 2011; Pohler *et al.*, 2015). MicroRNAs are released from cells of most tissue types in plasma membrane bound extracellular vesicles (Parr *et al.*, 2012), specifically exosomes. MicroRNAs are being used to evaluate many physiological systems, particularly disease research from cancer to heart disease and many others. Evidence indicates that specific miRNAs in maternal serum may have an impact on gene expression and regulation which identifies them as potential biomarkers of pregnancy. Studies have identified miRNAs produced by pregnant animals in horses, sheep and cattle (Cameron *et al.*, 2011; Burns *et al.*, 2014; Pohler *et al.*, 2016). A recent study by Fiandanese *et al.* (2016) identified a potential miRNA, bta-mir 140, as an early biomarker for pregnancy detection. At day 13, bta-mir 140 was increased in abundance in circulation of pregnant, non-lactating cows and at day 19 it was upregulated in both lactating and non-lactating pregnant cows. Multiple groups, including our lab, have identified specific miRNAs differentially regulated in pregnant versus non-pregnant animals. However, additional research is needed to identify specific miRNA most effective for pregnancy diagnosis as well as methods of detection.

Early gestation diagnosis

Research in early pregnancy diagnosis is focused in two areas: increasing sensitivity of current assays and methods and new markers of pregnancy detection. While PAG testing is confined to the time period of physiological availability (not before day 17), a recent study in dairy heifers undergoing embryo transfer have shown potential for a day 24 pregnancy test (Reese *et al.*, 2016). Serum PAG concentrations greater than 1.39 ng/mL at day 24 were 95% accurate in diagnosing a pregnant heifer. However, heifers have a higher PAG concentration than mature cows and recent research predicts that embryo mortality between day 24 and 30 may be higher than originally expected

(Pohler *et al.*, 2016). Thus, early pregnancy diagnosis using PAG is possible; however, more work is needed in this area to refine methods and detection assays.

Forecasting embryonic loss

The ability to predict and detect pregnancy loss or failure is the next frontier in pregnancy diagnosis. Both PAG and miRNA data suggest that embryo loss can be predicted using these biomarkers. Recent PAG testing studies have shown a strong correlation between successful pregnancies and elevated serum PAG concentrations early in gestation. In comparison to progesterone concentrations, which exhibit no difference between heifers or cows that undergo embryo mortality and those that maintain pregnancy, PAG concentrations are significantly different between the two groups (Reese *et al.*, 2016). In a study by Pohler *et al.* (2013), cows that maintained pregnancy had significantly higher serum PAG concentration than cows that underwent pregnancy loss after a viable fetal heartbeat was detected at day 28. As serum concentrations increase, the probability of embryo mortality decreases. In a more recent study, late embryo mortality was predicted with 95% accuracy if PAG levels were less than 1.4 ng/ml at day 31 following timed artificial insemination (Pohler *et al.*, 2016).

Preliminary data from our lab suggests miRNA may provide additional insight to embryo viability. Cows that experience embryo mortality have a significantly increased abundance of specific miRNAs at days 17 and 24 of gestation compared to cows that have a successful pregnancy. Future studies will be needed to assess the repeatability of these findings and to determine precise miRNA most applicable for embryo viability analysis.

Practical applications

Although current research aims to develop earlier methods of diagnosing pregnancy in cattle, there are producers who do not regularly assess the pregnancy status of their herd in any way. According to the USDA cow-calf management practices survey in 2008, only 20% of United States beef producers evaluate pregnancy status of their cows, 18% use palpation and only 2.2% use ultrasound for pregnancy diagnosis. About 38% of producers say that labor/time is the principal obstacle preventing them from diagnosing pregnancy in their herd, another 16% believe it is just too complicated, others blame the cost, lack of facilities or believe that it does not work. Assessing pregnancy in a herd is an essential component of an efficient operation, necessary for making management decisions and minimizing wasted resources on unproductive cows. No matter which method is chosen, a producer that knows the pregnancy status of their cows will be better off than a producer that does not.

There are many important factors to consider when implementing a pregnancy detection program. Timing is the first one. Diagnosing pregnancy early in gestation (2 to 10days) may provide disappointing end results as some cows diagnosed pregnant will later be found non-pregnant due to embryo mortality that occurs within the first 30-45 days of gestation. Most embryonic loss occurs before the placenta is fully formed at approximately 60 days of gestation (Santos *et al.*, 2004). Pregnancy diagnosis that occurs after day 70 is more accurate compared to the end calving rate however, it may be too late in the breeding season for non-pregnant cows to get rebred.

Table 1 - Advantages and disadvantages for three methods of pregnancy testing

	Advantages and disadvantages for three methods of pregnancy testing					
	When Pregnancy can be Detected	Age of Calf	Sex of Calf	Experienced Technician Needed?	Cost/ Cow	When Results Known
Palpation	35-50 days	Yes	No	Yes	$3-$10	Immediately
Ultrasound	30 days	Yes	Potentially	Yes	$7-$15	Immediately
Blood Test (PAG)	28-30 days	No	No	No	$3-$5	1-4 days

Each method of pregnancy diagnosis has challenges to its uses and may not be the best fit for every production setting. Transrectal ultrasound can detect pregnancy early as 28 days after AI; however, this technique requires a skilled technician or veterinarian, and may require an additional diagnosis around day 60 of gestation. Transrectal palpation or PAG testing on day 60 of gestation can detect embryonic loss and provide a better estimate of calving rate. These two factors increase the cost of pregnancy diagnosis by ultrasound. Transrectal palpation may be more cost effective; however, accurate diagnosis even by a trained technician is limited before day 45 of gestation.

Among several blood tests available for pregnancy diagnosis, PAG testing has a significant advantage as it is pregnancy specific. From a simple blood or milk sample taken on day 28-30, producers can know pregnancy status in 2-4 days for around US$3.00. Chemical based testing may be a good option for many producers due to the low cost, early gestation sampling and ease of blood or milk collection.

Although PAG testing at day 28 may have lower accuracy than the transrectal ultrasound, some discrepancy may be eliminated when final calving rates are recorded. Some serum PAG tests may predict late embryonic loss while ultrasounds cannot. When a fetal heartbeat of an embryo is viewed on an ultrasound, there is no indication whether or not embryo mortality will occur. On the other hand, cows that appeared pregnant on the ultrasound but will later experience embryo mortality often show as non-pregnant on serum PAG tests. Pregnancy diagnosis using PAGs more closely forecast the calving rate reality.

CONCLUSIONS

Waiting for the end of calving season to determine pregnancy rate is not economically viable; however, a limited percentage of United States beef producers evaluate pregnancy status of their herd. Early pregnancy detection is very important to detect non-pregnant cows as soon as possible. There are several different tests and methods available to provide diagnostic information. Choosing a method is entirely dependent on what fits into the farm's production system. In the future, we expect that blood-based pregnancy test gain popularity due to its accuracy and ability to predict embryo loss. As technology develops, blood based pregnancy test results will be available in minutes chute side for a relatively low cost.

REFERENCES

- Abbitt, B. *et al.* 1978. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. J Am Vet Med Assoc 173: 973-977.
- Alexander, B. M. *et al.* 1995. Embryonic loss from 30 to 60 days post breeding and the effect of palpation per rectum on pregnancy. Theriogenology 43: 551-556.

- Burns, G. *et al.* 2014. Extracellular vesicles in luminal fluid of the ovine uterus. PLoS One 9: e90913.
- Cameron, A., J. C. da Silveira, G. Bouma, and J. E. Bruemmer. 2011. Evaluation of exosomes containing miRNA as an indicator of pregnancy status in the mare. Journal of Equine Veterinary Science 31: 2.
- Cordoba, M. C., R. Sartori, and P. M. Fricke. 2001. Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. J Dairy Sci 84: 1884-1889.
- de Sousa, N. M. *et al.* 2003. Pregnancy-associated glycoprotein concentrations during pregnancy and the postpartum period in Azawak Zebu cattle. Theriogenology 59: 11.
- Fiandanese, N. *et al.* 2016. Circulating microRNAs as potential biomarkers of early pregnancy in high producing dairy cows Proc. International Embryo Technology Society. p 165, Louisville, KY.
- Franco, O. J., M. Drost, M. J. Thatcher, V. M. Shille, and W. W. Thatcher. 1987. Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. Theriogenology 27: 631-644.
- Gifford, C. A. *et al.* 2007. Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. J Dairy Sci 90: 274-280.
- Ginther, O. J. 2007. Ultrasonic imaging and animal reproduction: color-Doppler ultrasonography. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI.
- Green, J., C. Okamura, S. Poock, and M. Lucy. 2010. Measurement of interferon-tau (IFN-ტ) stimulated gene expression in blood leukocytes for pregnancy diagnosis within 18–20d after insemination in dairy cattle. Animal reproduction science 121: 24-33.
- Green, J. A. *et al.* 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.
- Han, H., K. J. Austin, L. A. Rempel, and T. R. Hansen. 2006. Low blood ISG15 mRNA and progesterone levels are predictive of non-pregnant dairy cows. J Endocrinol 191: 505-512.
- Herzog, K. *et al.* 2010. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. Theriogenology 73: 691-697.
- Karen, A. *et al.* 2015. Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Anim Reprod Sci 159: 31-37.
- Kastelic, J. P., R. A. Pierson, S. Curran, and O. J. Ginther. 1988. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. Theriogenology 29: 16.
- Lopez-Gatius F.; Garcia-Ispierto, I. 2010. Ultrasound and endocrine findings that help to assess the risk of late embryo/early foetal loss by non-infectious cause in dairy cattle. Reprod Domest Anim 45: 9.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J Dairy Sci 84: 1277-1293.
- Mann, G. E., Lamming, G. E. 1999. Influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod Domest Anim 34: 6.
- Matsui, M., and A. Miyamoto. 2009. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. Vet J 181: 232-240.
- Morton, H. 1998. Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue. Immunol Cell Biol 76: 483-496.
- Nebel, R. L. 1988. On-farm milk progesterone tests. J Dairy Sci 71: 1682-1690.
- Nebel, R. L., W. D. Whittier, B. G. Cassell, and J. H. Britt. 1987. Comparison of on-farm laboratory milk progesterone assays for identifying errors in detection of estrus and diagnosis of pregnancy. J Dairy Sci 70: 1471-1476.
- Paisley, L. G., Mickelson, W. D., Trost, O. L. 1978. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. Theriogenology 9: 11.
- Parr, M. H. *et al.* 2012. Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. J Dairy Sci 95: 2390-2396.
- Pohler, K. G. *et al.* 2013. Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows. J Anim Sci 91: 4158-4167.
- Pohler, K. G. *et al.* 2015. Predicting Embryo Presence and Viability. Adv Anat Embryol Cell Biol 216: 253-270.
- Pohler, K. G. *et al.* 2016. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. J Dairy Sci 99: 1584-1594.
- Quintela, L. A. *et al.* 2012. Use of ultrasound in the reproductive management of dairy cattle. Reprod Domest Anim 47 Suppl 3: 34-44.
- Reese, S. T., M. C. Pereira, J. L. Vasconcelos, and K. G. Pohler. 2016. Pregnancy Associated Glycoprotein (PAG) concentrations in early gestation from dairy heifers undergoing embryo transfer ASAS- ADAS Joint Annual Meeting, Salt Lake City, Utah.
- Reid, G., M. B. Kirschner, and N. van Zandwijk. 2011. Circulating microRNAs: Association with disease and potential use as biomarkers. Crit Rev Oncol Hematol 80: 193-208.
- Romano, J. E., K. Bryan, R. S. Ramos, J. Velez, and P. Pinedo. 2016. Effect of early pregnancy diagnosis by per rectum amniotic sac palpation on pregnancy loss, calving rates, and abnormalities in newborn dairy calves. Theriogenology 85: 419-427.
- Romano, J. E. *et al.* 2007. Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. Theriogenology 67: 486-493.
- Santos, J. E., W. W. Thatcher, R. C. Chebel, R. L. Cerri, and K. N. Galvao. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Anim Reprod Sci 82-83: 513-535.
- Sasser, R. G., and C. A. Ruder. 1987. Detection of early

pregnancy in domestic ruminants. J Reprod Fertil Suppl 34: 261-271.

- Singh, J., G. P. Adams, and R. A. Pierson. 2003. Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. Anim Reprod Sci 78: 371-399.
- Siqueira, L. G. *et al.* 2013. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. J Dairy Sci 96: 6461-6472.
- Szenci, O. *et al.* 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology 50: 77-88.
- Thompson, J. A. *et al.* 1994. Pregnancy attrition associated with pregnancy testing by rectal palpation. J Dairy Sci 77: 3382-3387.
- Thurmond, M. C., and J. P. Picanso. 1993. Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. J Am Vet Med Assoc 203: 432-435.
- Vaillancourt, D. *et al.* 1979. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. J Am Vet Med Assoc 175: 466-468.
- Wallace, R. M., K. G. Pohler, M. F. Smith, and J. A. Green. 2015. Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. Reproduction 149: R115-126.
- Weng, X. G. *et al.* 2015. Genetic characterization of bovine viral diarrhea virus strains in Beijing, China and innate immune responses of peripheral blood mononuclear cells in persistently infected dairy cattle. Journal of veterinary science 16: 491-500.
- Yang, L. *et al.* 2010. Up-regulation of expression of interferon-stimulated gene 15 in the bovine corpus luteum during early pregnancy. Journal of dairy science 93: 1000-1011.
- Zemjanis, R. 1962. Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction. The Williams and Wilikins Company, Baltimore, MD.
- Zemjanis, R. F., M.; Schultz, R.H. 1969. Anestrus: the practitioner's dilemma. Vet Scope: 1.
- Zoli, A. P., L. A. Guilbault, P. Delahaut, W. B. Ortiz, and J. F. Beckers. 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. Biol Reprod 46: 83-92.

CONSIDERACIONES Y LIMITACIONES DE LOS MEDIDORES DE LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA

P. M. Fricke, A. Valenza, G. Lopes Jr., M. C. Amundson, y J. O. Giordano

Departamento de Ciencias Lácteas de la Universidad de Wisconsin-Madison

INTRODUCCIÓN

A pesar de la generalizada adopción de protocolos de sincronización hormonal que permiten la inseminación artificial a tiempo fijo (**IATF**), la detección del celo expresado sigue desempeñando un papel importante en el programa de gestión reproductivo general en la mayoría de las lecherías en los EE.UU. (Caraviello *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2007). Varias dificultades para la detección del estro en las granjas incluyen una atenuación de la duración del comportamiento estral asociado con el incremento de la producción de leche en el momento del estro, resultando en períodos más cortos de tiempo para detectar visualmente el comportamiento estral (López *et al.*, 2004), un bajo número de vacas expresando el estro permanente (Lyimo *et al.*, 2000; Roelofs *et al.*, 2005; Palmer *et al.*, 2010), ovulaciones silenciosas (Thatcher y Wilcox, 1973; Palmer *et al.*, 2010; Ranasinghe *et al.*, 2010), y la reducción de la expresión de comportamiento estral debido al confinamiento (Palmer *et al.*, 2010). Cualquiera que sea la causa, la baja eficiencia en la detección del celo no sólo aumenta el tiempo desde el parto hasta la primera IA, también aumenta el intervalo promedio entre servicios de IA (Stevenson y Call, 1983), limitando así el ritmo a la que las vacas se quedan gestantes.

Debido al impacto del ritmo del servicio de IA sobre la reproducción y los problemas asociados con la detección visual del celo en las granjas, se han desarrollado muchas técnicas para mejorar la detección del estro proporcionando una vigilancia continua del comportamiento, incluido dispositivos marcadores sobre la grupa y hembras androgenizadas (Gwazdauskas *et al.*, 1990), podometría (Peralta *et al.*, 2005; Roelofs *et al.*, 2005), y la radiotelemetría (Walker *et al.*, 1996; Dransfield *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998). Se han desarrollado y comercializado para la industria lechera nuevos sistemas electrónicos que incorporan acelerómetros como medio para asociar el incremento de la actividad física con el comportamiento estral en bovinos (Holman *et al.*, 2011; Jónsson *et al.*, 2011). Aunque existe un gran cuerpo de literatura sobre la precisión y la eficacia del uso de diversas tecnologías para predecir la ovulación y el momento de la IA en relación a la ovulación en vacas lecheras en lactación, no existen otros estudios que hayan investigado los acelerómetros para tales fines.

Recientemente realizamos una serie de experimentos en colaboración con una granja láctea comercial en Wisconsin para evaluar la precisión de un sistema de monitorización para la sincronización de la IA en relación a la ovulación (Valenza *et al.*, 2012) e incorporar un sistema de monitorización de actividad en un programa de gestión reproductivo para la primera IA (Fricke *et al.*, 2012). La lechería colaboradora es una típica granja láctea de confinamiento en la parte alta del Medio Oeste de los EE.UU. La granja ordeñaba aproximadamente 1.000 vacas que estaban alojados en una cuadra de estabulación libre con acceso ad-libitum a alimentos y agua. Las vacas fueron alimentadas con una ración total mezclada una vez al día que fue formulada para cumplir o exceder los requisitos del NRC para vacas lecheras de alta producción (NRC, 2001). Las vacas se ordeñaban tres veces al día y produjeron ~41 kg de leche por día de media durante el transcurso de los dos experimentos.

En aproximadamente 14 días después del parto, todas las vacas fueron equipados con un medidor de actividad (Heatime SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) conectado a un collar. Después de cada ordeño, los datos recopilados por el sistema de monitorización de actividad eran leídos por un transceptor colocado en un arco a la salida de la zona de ordeño y transferido al sistema de supervisión de la actividad del software de gestión del rebaño (DataFlow I™ versión 4.7; SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) instalado en un ordenador en la granja. Todos los ajustes del software del sistema de monitorización de actividad eran los mismos que utilizaba la granja en el momento de los experimentos, y no se cambió la configuración del software en el transcurso de los experimentos. El sistema de monitorización de la actividad supervisaba continuamente la actividad individual de cada vaca y registraba la actividad promedio durante periodos de 2 horas. La actividad de las vacas individuales fue trazada en un gráfico de barras, donde cada barra representa un bloque de tiempo de 2 horas. Utilizando un algoritmo matemático, el software calculó un índice de actividad ponderado que expresa la desviación momentánea de la actividad comparada con la actividad promedio en el mismo período de tiempo durante los 7 días anteriores, y se representó la actividad ponderada en el informe de actividad mediante una línea sólida. Los resultados de las gestaciones se presentan como gestaciones por IA (**G/IA**) evaluando un diagnóstico de gestación en un determinado día post inseminación.

Experimento 1 - Evaluación de un sistema de acelerómetro para la detección del estro y para el tratamiento con GnRH en el momento de la inseminación en vacas lecheras en lactación.

A fin de evaluar el uso de un sistema de acelerómetro para la gestión de la reproducción, se utilizaron las vacas Holstein lactantes en una granja comercial ubicada en el sudoeste de Wisconsin, que ordeña aproximadamente 1.000 vacas, en un ensayo de campo que se realizó desde agosto de 2010 hasta junio de 2011 (Valenza *et al.*, 2012). A los 14 días después del parto, todas las vacas fueron equipadas con acelerómetro (Heatime®, SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) conectado a un collar y a una etiqueta de identificación electrónica. Después de cada ordeño, los datos recopilados por el acelerómetro fueron leídos por un transceptor colocado en el arco de salida de la zona de ordeño y, a continuación, transferidos al software de gestión del rebaño del acelerómetro (Data Flow™; Micro Dairy Logic, Amarillo, TX) instalado en el ordenador de la explotación. El sistema del acelerómetro supervisaba continuamente la actividad individual de cada vaca y registraba la actividad promedio durante periodos de 2 horas. La actividad cruda de las vacas individuales fue trazada en un gráfico de barras, donde cada barra representa un bloque de tiempo de 2 horas.

El comienzo de la actividad se definió como el momento en que se identificó la primera barra de actividad de un evento del estro. La duración de la actividad se definió como el intervalo de tiempo entre el comienzo y el final de la actividad de un evento del estro. Dos veces al día (mañana y tarde), se generaba una lista de vacas que el acelerómetro determinaba que eran idóneas para la inseminación, y las vacas que aparecían en la lista generada por el acelerómetro eran inseminadas. Por lo tanto, dos encargados del rebaño realizaron inseminaciones dos veces al día (mañana y tarde) y cada vaca recibió una única inseminación basada en su actividad.

Cada semana, se examinaron cohortes de 10 a 15 vacas de 46 a 52 DIM mediante ecografía transrectal para determinar la salud uterina y registrar las estructuras del ovario. Las vacas sin signos de enfermedad uterina y al menos un folículo de ≥ 10 mm de diámetro recibieron una inyección intramuscular de GnRH seguida por una inyección intramuscular de $PGF_{2\alpha}$ 7 días después para sincronizar el estro (Figura 1). Se realizó una ecografía transrectal en el momento de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ para la determinación posterior de la respuesta ovulatoria al tratamiento de GnRH. Se inscribieron un total de 112 vacas, pero sólo se incluyeron en los análisis las 89 vacas que se consideraron correctamente sincronizadas. Se realizó una ecografía transrectal en el momento de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ para la determinación posterior de la respuesta ovulatoria al tratamiento de GnRH. Se estimaron el diámetro de las estructuras ovaricos y se registraron utilizando cuadrículas de fondo en pantalla compuestas de cuadrados cuyos lados medían 10 mm en el lector portátil. La ovulación fue definida como la presencia de un folículo de ≥ 10 mm en la ecografía inicial en el momento de la inyección de GnRH y la presencia de un nuevo cuerpo lúteo en la misma ubicación en el ulterior examen de ultrasonido en el momento de la inyección de $PGF_{2\alpha}$. Posteriormente, se realizó una ecografía ovárica 48 horas después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ y luego cada 8 horas hasta que se produjo la ovulación o hasta las 96 horas, si ello ocurría primero. Las vacas que no ovulaban dentro de las 96 horas después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ eran examinadas de nuevo 3 días más tarde (es decir, 7 días después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$) para determinar si había ocurrido la ovulación.

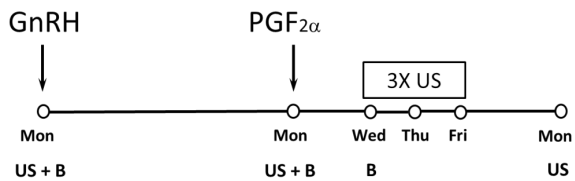


Figura 1. Diagrama de actividades experimentales. A los 46 a 52 días después del parto, las vacas fueron sometidas a un Protocolo G-P para sincronizar el estro utilizando inyecciones intramusculares de GnRH (100 µg) y $PGF_{2\alpha}$ (25 mg). Se utilizaron ecografías transrectales para evaluar las estructuras ováricas durante el protocolo y el tiempo de ovulación después de la inducción de la luteolisis, y se recogieron muestras de sangre (B) para evaluar la progesterona sérica (de Valenza *et al.*, 2012).

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra el porcentaje de vacas con eventos de estro detectados por el sistema del acelerómetro y la clasificación de las vacas por la aparición del estro y la ovulación. A lo largo del periodo de estudio, el 78% de las vacas ovularon dentro de los 7 días después de la inducción de la luteolisis. De las vacas que ovularon, el 59% ovularon en un plazo de 96 horas, mientras que el 41% ovuló entre 96 y 168 horas (de 4 a 7 días) después de la inducción de la luteolisis. En general, el sistema del acelerómetro detectó que el 71% de las vacas estaban en celo, y el 95% de las vacas que mostraban síntomas de estro ovularon, mientras que el 5% no ovuló en los 7 días posteriores a la inducción de la luteolisis. De las vacas en las que el sistema del acelerómetro no detectó que estaban en estro, el 35% ovuló, mientras que el 65% no ovuló en los 7 días posteriores a la inducción de la luteolisis.

Tabla 1. El porcentaje de vacas detectadas en celo, y la distribución de las vacas por actividad estral y ovulación posterior a la inducción de la luteolisis basado en la utilización de un sistema de acelerómetro[1] (adaptado de Valenza *et al.*, 2012).

Respuesta de actividad y ovulación de las vacas después de la inducción de la luteolisis	% (n)
Vacas con actividad estral	71 (89)
Vacas que ovularon	95 (63)
Vacas que no ovularon	5 (63)
Vacas sin actividad estral	29 (89)
Vacas que ovularon	35 (26)
Vacas que no ovularon	65 (26)

[1]Heatime®, SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel.

La duración de la actividad estral de las vacas en estro detectadas por el sistema de acelerómetro (16,1 ± 4,7 h, intervalo = 4,0 a 28,0; Figura 2) no se vio afectada (P = 0,74) por la paridad (16,4 vs. 17,2 h para las primerizas y las multíparas, respectivamente) o la producción de leche en el momento del estro (P = 0.51). La duración del estro observado en este experimento es comparable a la duración media (13,4 horas) visto en las vacas supervisadas para detectar el estro por la observación visual de las señales de comportamiento estral primarias (de pie preparadas para ser montadas) y múltiples secundarias (Roelofs *et al.*, 2004). Por el contrario, la duración del estro observada en el experimento actual es considerablemente más larga que la duración media del estro en función del intervalo entre el primer y el último evento permanente de estro detectado mediante un sistema electrónico de detección de estro. Las discrepancias entre la duración del estro en función de la actividad o la observación visual con la duración registrada basada en eventos permanentes son posiblemente debidas a la desvinculación de la expresión de signos secundarios de comportamiento estral y el estro permanente. De hecho, Sveberg *et al.*, (2011) informaron de que los signos secundarios de comportamiento estral, que sin duda pueden ser detectadas por la observación visual o el aumento de actividad, aumentó de manera significativa entre 1 y 3 horas antes del comienzo del estro permanente en vacas lecheras en lactación.

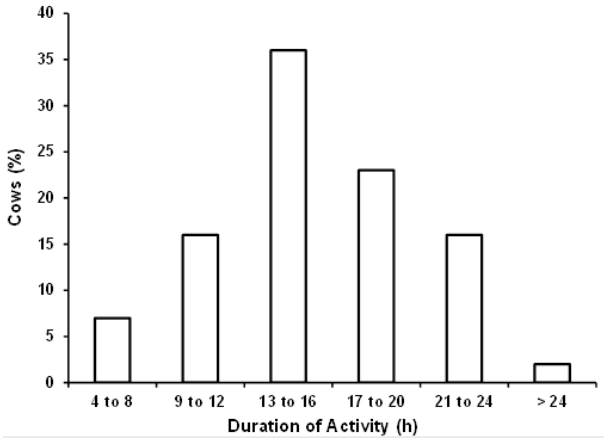


Figura 2. La distribución de las vacas basada en la duración de la actividad asociada con el estro en el caso de vacas en estro detectadas por un sistema de acelerómetro (Heatime®) dentro de un periodo de 7 días posteriores a la sincronización del estro (de Valenza *et al.*, 2012).

No esperábamos que el ~30% de las vacas no mostraran estro dentro de los 7 días después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ porque un folículo >10 mm estuvo presente en todas las vacas en el momento de la inyección de $PGF_{2\alpha}$, y todas las vacas incluidas en el estudio sufrieron regresión luteal dentro de las 48 horas después del tratamiento con $PGF_{2\alpha}$. En otro estudio en el que las vacas recibieron dos inyecciones secuenciales de $PGF_{2\alpha}$ a los 35 y 49 DIM, sólo el 67,9% de vacas detectados con ciclos de 49 DIM fueron detectados en estro e inseminadas después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ lo que llevó a los autores a concluir que otras cuestiones aparte de la ciclicidad afectó la eficiencia y la precisión de la detección del estro (Chebel y Santos, 2010). El porcentaje de vacas que no ovularon dentro del grupo de vacas que no presentaban signos de estro fue del 65% en el caso del sistema del acelerómetro, sugiriendo que no hubo estro en estas vacas. El 35% restante de las ovulaciones en las vacas que no presentaron estro pueden haber sido ovulaciones silenciosas (ovulación sin estro), un fenómeno descrito en vacas lecheras en lactación, especialmente durante las primeras fases del periodo postparto (Thatcher y Wilcox, 1973; Palmer *et al.*, 2010; Ranasinghe *et al.*, 2010). Además, el 5% de las vacas detectadas en estado de estro no ovularon en el plazo de 7 días después de la inducción de la luteolisis. La tasa general de fracaso de la ovulación en vacas lecheras en lactación que presentaban signos de estro fue del 6,5% y fue mayor durante la estación cálida que durante la estación fresca (López-Gatius *et al.*, 2005). Esta tasa de fracaso de la ovulación representa un pequeño porcentaje de la población de vacas en este experimento y podría deberse a un fallo en el mecanismo desencadenante de la ovulación (es decir, no se produce un aumento de LH o hay una insuficiencia de secreción de LH) o una falta de respuesta del folículo dominante ante el aumento de LH.

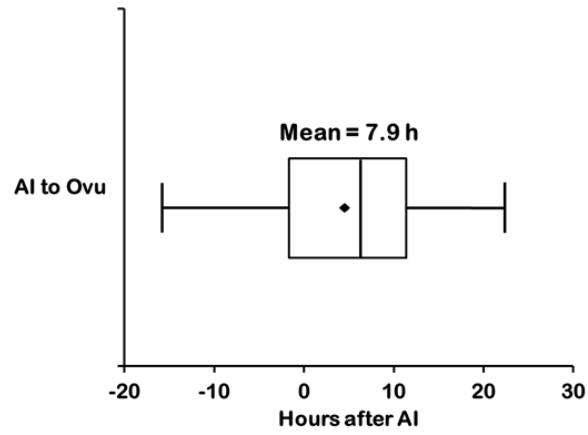


Figura 3. Diagrama de lingotes del intervalo desde la IA hasta la ovulación (n = 38 vacas). La IA fue realizada dos veces al día en vacas que se detectaba que estaban en estro utilizando un sistema de acelerómetro (Heatime®). La ovulación se determinó mediante ecografía transrectal realizada cada 8 horas, entre 48 y 96 horas después de la inducción de la luteolisis. Las vacas fueron sincronizadas mediante una inyección IM de GnRH (100 µg), seguido 7 días después por la inducción de la luteolisis usando $PGF_{2\alpha}$ (25 mg).

Debido al corto ciclo vital del oocito en bovinos (Hunter, 2003), el intervalo desde la IA hasta la ovulación es crucial para optimizar la fertilidad en vacas lecheras inseminadas después del estro. En el presente estudio, el intervalo promedio desde la IA hasta la ovulación fue de 7,9 horas (Figura 3). Este intervalo medio puede parecer apropiado porque abarca las 6 a 8 horas necesarias para la fase del transporte de la esperma hasta el lugar de la fertilización y para la capacitación espermática (Hunter y Wilmut, 1983; Wilmut y Hunter, 1984; Hawk, 1987); sin embargo, el grado de variación de la IA con respecto al intervalo de ovulación (Figura 3) es una preocupación importante. En general, el 21% de las vacas recibieron la IA entre 0 a 12 horas después de la ovulación, una sincronización asociada con bajas tasas de fertilización y calidad embrionaria en vacas lecheras en lactación (Roelofs *et al.*, 2006), posiblemente debido al envejecimiento del oocito durante el período necesario para el transporte de los espermatozoides y la capacitación. Por el contrario, sólo 1 vaca fue inseminada más de 24 horas antes de la ovulación, un período que se traduce en altas tasas de fertilización pero de baja calidad embrionaria, posiblemente debido al envejecimiento de los espermatozoides (Roelofs *et al.*, 2006). Basándose en estos datos, puede ser útil o bien reducir la variación del intervalo entre la IA y la ovulación, de manera que se inseminan mayor número de vacas en el momento óptimo en relación a la ovulación, o alternativamente, inseminar a las vacas unas horas antes para reducir la probabilidad de inseminar a las vacas después o en el momento de la ovulación cuando se detectan en celo utilizando un sistema de acelerómetro.

Experimento 2 - El comportamiento reproductivo de vacas en lactación gestionadas para el primer servicio mediante la inseminación artificial a tiempo fijo con o sin la detección del estro utilizando un sistema de monitorización de actividad.

Un enfoque combinado en el que la IA se basa tanto en la actividad detectada por un sistema de monitorización de actividad seguido de la presentación de las vacas a las que no se les detectó actividad a un sistema de IA a tiempo fijo tras la sincronización de la ovulación puede ser una estrategia

eficaz y económico para seleccionar vacas lecheras para someterlas a su primera IA. Se realizó una prueba de campo para comparar el comportamiento reproductivo de vacas lecheras en lactación en relación con la primera aplicación de la IA utilizando la IA a tiempo fijo con o sin la detección de estro mediante un sistema de monitorización de actividad (Fricke *et al.*, 2012). Todas las vacas fueron administradas 2 inyecciones intramusculares de $PGF_{2\alpha}$ con un intervalo de 14 días (Presynch) a 39 ± 3 y 53 ± 3 DIM para pre-sincronizar sus ciclos estrales 12 días antes de someterlas a un protocolo Ovsynch, y se monitorizó la actividad de todas las vacas mediante un sistema de monitorización de actividad (Heatime, SCR Engineers Ltd., Netanya, Israel) comenzando con 24 ± 3 DIM. Las vacas sometidas al tratamiento 1 (n=333) con un aumento de la actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ fueron inseminadas en función de la actividad, mientras que las vacas sin mayor actividad fueron sometidos a un protocolo Ovsynch comenzando 12 días después de la segunda inyección de PGF2α del protocolo de pre-sincronización y recibieron una IA a tiempo fijo a los 75 ± 3 días de producir leche. Las vacas sometidas al tratamiento 2 (n=331) con un aumento de la actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ fueron registrados por el software del sistema de monitorización de actividad pero no fueron inseminadas, de manera que todas las vacas sometidas al tratamiento 2 completaron el protocolo Presynch-Ovsynch y recibieron IA a tiempo fijo a 75 ± 3 días de producir leche, independientemente de si se les detectó o no mayor actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$.

Tabla 2. Los efectos del tratamiento sobre el porcentaje de vacas Holstein en lactación con actividad según un sistema de monitorización de actividad, y gestaciones por IA (G/IA) en vacas con o sin actividad e inseminadas basados en su actividad (IA) o inseminadas después de la sincronización de la ovulación (IATF). Adaptado de Fricke *et al.*, 2012.

	Tratamiento	
Tema	1	2
Vacas con actividad detectada, % (n/n)	69 (230/335)	70 (232/331)
G/IA 35 días después de la IA, % (n/n)		
Vacas con actividad recibiendo IA	30[a] (68/230)	-
Vacas con actividad recibiendo IATF	-	41[b] (96/232)
Vacas sin actividad recibiendo IATF	36 (37/104)	35 (35/99)
G/IA general 35 días después de la IA, % (n/n)	32[c] (105/333)	40[d] (131/331)
G/IA 67 días después de la IA, % (n/n)		
Vacas con actividad recibiendo IA	27 (62/230)	-
Vacas con actividad recibiendo IATF	-	40 (92/232)
Vacas sin actividad recibiendo IATF	33 (34/104)	35 (35/99)
G/IA general 67 días después de la IA, % (n/n)	29[c] (96/333)	38[d] (127/331)

[a,b]Dentro del tratamiento por subgrupo de actividad, el contraste estadístico varió (E = 0,004).

[c,d]Dentro de una fila, porcentajes con diferentes superíndices variaron (E = 0,0454).

[1]Los tratamientos fueron: 1) vacas inseminadas en base a un sistema de monitorización de actividad después de un protocolo de pre-sincronización con vacas a las que no se detectó actividad recibiendo IATF tras la sincronización de la ovulación utilizando un protocolo Presynch-Ovsynch; 2) vacas recibiendo IATF después de un protocolo Presynch-Ovsynch.

El sistema de monitorización de actividad ha detectado un aumento de la actividad en el 69% y el 70% de las vacas después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ en los tratamientos 1 y 2, respectivamente (Tabla 2), que supone aproximadamente de 10 a 15 puntos porcentuales más que el porcentaje encontrado en los estudios que utilizan tiza para el marcado de la cola después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ de un protocolo Presynch-Ovsynch (Phatak y Stevenson, 2005; Chebel y Santos, 2010). En general, las vacas sometidas al tratamiento 1, en el que se produjeron las inseminaciones combinando la IA basado en la actividad y la IA a tiempo fijo presentaron menos casos de E/IA en comparación a las vacas sometidas al tratamiento 2 en la que todas las vacas recibieron la IA a tiempo fijo tras completar el protocolo Presynch-Ovsynch (Tabla 2). La reducción de los E/IA debido a la inseminación de las vacas con mayor actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ era previsible, ya que el aumento de E/IA debido a la pre-sincronización con la $PGF_{2\alpha}$ probablemente venga dado por la sincronización del estro después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ (Navanukraw *et al.*, 2004); por lo tanto, la mayoría de las vacas inician el protocolo Ovsynch en los días 5 a 9 del ciclo estral subsiguiente, mejorando así el E/IA en relación con la IA a tiempo fijo (Vasconcelos *et al.*, 1999). La inseminación del 70% de las vacas en función de la actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ eliminó a las vacas pre-sincronizadas del protocolo, neutralizando así el aumento de E/IA debido a la pre-sincronización. Las vacas sin un aumento de la actividad después de la segunda inyección de $PGF_{2\alpha}$ y sometidas a un protocolo Ovsynch tenían una relación de E/IA del 33% y del 35% para los tratamientos 1 y 2, respectivamente (Tabla 2). Las tasas de gestación de vacas anovulares sometidas a un protocolo Ovsynch es generalmente del 20% en comparación con cerca del 35% de las vacas con ciclos al iniciar un protocolo Ovsynch en un momento aleatorio del ciclo (Gümen *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2008). Por lo tanto, las vacas que no presentan actividad y que fueron sometidas a un protocolo Ovsynch tenían un E/IA similar al de las vacas con ciclos al iniciar un protocolo Ovsynch en una fase aleatoria del ciclo. Por lo tanto, someter agresivamente las vacas a un protocolo Ovsynch si no se detecta un aumento de actividad es una estrategia eficaz de gestión para establecer el embarazo en este subgrupo de vacas.

En general, el 31% de las vacas en el tratamiento 1 y el 100% de las vacas en el tratamiento 2 fueron sometidas a la parte Ovsynch del protocolo de sincronización, y se tomaron muestras de sangre de un subgrupo (~85%) de las vacas de cada tratamiento en la primera inyección de GnRH del protocolo Ovsynch para determinar la concentración de progesterona al inicio del protocolo (Fricke *et al.*, 2012). Sorprendentemente, más del 50% de estas vacas tuvieron concentraciones de progesterona ≥ 1 ng/mL en la primera inyección de GnRH del protocolo, y se observaron resultados similares para las vacas del tratamiento 2 que no presentaron actividad después de la pre-sincronización. Por lo tanto, muchas vacas sin actividad tras la pre-sincronización probablemente ovularon en ausencia de actividad detectable, resultando en una alta cantidad de progesterona en la primera inyección de GnRH del protocolo Ovsynch. Estos resultados coinciden con el 10% de las vacas que ovularon pero a las que no se les pudo detectar actividad por medio del sistema de monitorización de actividad (Valenza

et al., 2012; Tabla 1). Los resultados de Fricke *et al.* (2012) respaldan una estrategia de gestión en la que el 30% de las vacas a las que no se les detectó actividad sean agresivamente sometidas a un protocolo Ovsynch en lugar de continuar con la detección de actividad mediante un sistema de monitorización de actividad.

CONCLUSIÓN

Una consecuencia práctica de estos datos es que sólo dos tercios de las vacas que se consideraron correctamente sincronizadas habrían sido inseminadas en base al sistema del acelerómetro y ovularían después de la IA. El resto de las vacas o bien no serían inseminadas porque no se detectó que estaban en estro o no tendrían la oportunidad de concebir mediante la IA porque no ovularían después del estro. Estos datos subrayan la importancia de la aplicación de un amplio programa de gestión reproductivo para la identificación y el tratamiento de las vacas que, de otra manera, no serían inseminadas y para identificar aquellas vacas que no ovulan cuando entran en su ciclo espontáneamente. Sobre la base de los datos del presente experimento utilizando este sistema de acelerómetro, el tiempo medio de la IA en relación a la ovulación fue aceptable para la mayoría de las vacas detectadas en estro; sin embargo, la variabilidad en la duración del estro y el momento de la IA en relación a la ovulación podría resultar en la baja fertilidad de algunas vacas.

BIBLIOGRAFÍA

Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, M. J. Florent, N. B. Cook, K. V. Nordlund, N. R. Zwald, and C. L. Rawson. 2006. Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. J. Dairy Sci. 89:4723-4735.

- Chebel, R. C. and J. E. Santos. 2010. Effect of inseminating cows in estrus following a presynchronization protocol on reproductive and lactation performances. J. Dairy Sci. 93:4632-4643.
- Dransfield, M. B., R. L. Nebel, R. E. Pearson, and L. D. Warnick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. J. Dairy Sci. 81:1874-1882.
- Fricke, P. M., A. Valenza, J. O. Giordano, M. C. Amundson, and G. Lopes Jr. 2012. Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an accelerometer system. J. Dairy Sci. 95(Suppl. 2):74.
- Gumen, A. J. N. Guenther, and M. C.Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3184-3194.
- Gwazdauskas, F. C., R. L. Nebel, D. J. Sprecher, W. D. Whittier, and M. L. McGilliard. 1990. Effectiveness of rump-mounted devices and androgenized females for detection of estrus in dairy cattle. J. Dairy Sci. 73:2965-2970.
- Hawk, H. W. 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. J. Dairy Sci. 70:1487-1503.
- Holman, A., J. Thompson, J. E. Routly, J. Cameron, D. N. Jones, D. Grove-White, R. F. Smith, and H. Dobson. 2011. Comparison of estrus detection methods in dairy cattle. Vet. Rec. 169:47.
- Hunter, R. H. F. 2003. The process of ovulation and sheeding of an oocyte. Pages 262-286 in Physiology of the graafian follicle and ovulation. Cambridge University Press.
- Jónsson, R., M. Blanke, N. K. Poulsen, F. Caponetti, and S. Højsgaard. 2011. Estrus detection in dairy cows from activity and lying data using on-line individual models. Computers and Electronics in Agriculture 76:6-15.
- López-Gatius, F., M. López-Béjar, M. Fenech, and R. H. F. Hunter. 2005. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. Theriogenology 63:1298-1307.
- Lyimo, Z. C., M. Nielen, W. Ouweltjes, T. A. Kruip, and F. J. van Eerdenburg. 2000. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. Theriogenology 53:1783-1795.
- Miller, R. H., H. D. Norman, M. T. Kuhn, J. S. Clay, and J. L. Hutchison. 2007. Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. J. Dairy Sci. 90:1594-1606.
- Navanukraw, C., L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer, and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87:1551-1557.
- Palmer, M. A., G. Olmos, L. A. Boyle, and J. F. Mee. 2010. Estrus detection and estrus characteristics in housed and pastured Holstein-Friesian cows. Theriogenology 74:255-264.
- Peralta, O. A., R. E. Pearson, and R. L. Nebel. 2005. Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. Anim. Reprod. Sci. 87:59-72.
- Ranasinghe, R. M., T. Nakao, K. Yamada, and K. Koike. 2010. Silent ovulation, based on walking activity and milk progesterone concentrations, in Holstein cows housed in a free-stall barn. Theriogenology 73:942-949.
- Roelofs, J. B., E. G. Bouwman, S. J. Dieleman, F. J. Van Eerdenburg, L. M. Kaal-Lansbergen, N. M. Soede, and B. Kemp. 2004. Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around estrus and ovulation in dairy cattle. Theriogenology 62:1337-1352.
- Roelofs, J. B., E. A. Graat, E. Mullaart, N. M. Soede, W. Voskamp-Harkema, and B. Kemp. 2006. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. Theriogenology 66:2173-2181.
- Roelofs, J. B., F. J. van Eerdenburg, N. M. Soede, and B. Kemp. 2005. Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology 64:1690-1703.
- Stevenson, J. S., D. E. Tenhouse, R. L. Krisher, G. C. Lamb, C. R. Dahlen, J. R. Pursley, N. M. Bello, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, D. J. Brusveen, M. Burkhart, R. S. Youngquist, and H. A. Garverick. 2008. Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. J. Dairy Sci. 91:2901-2915.
- Stevenson, J. S. and E. P. Call. 1983. Influence of early estrus, ovulation, and insemination on fertility in

postpartum Holstein cows. Theriogenology 19:367-375.

- Stevenson, J. S. and A. P. Phatak. 2005. Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. J. Dairy Sci. 88:399-405.
- Sveberg, G., A. O. Refsdal, H. W. Erhard, E. Kommisrud, M. Aldrin, I. F. Tvete, F. Buckley, A. Waldmann, and E. Ropstad. 2011. Behavior of lactating Holstein-Friesian cows during spontaneous cycles of estrus. J. Dairy Sci. 94:1289-1301.
- Thatcher, W. W. and C. J. Wilcox. 1973. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. J. Dairy Sci. 56:608-610.
- Valenza, A., J. O. Giordano, G. Lopes Jr., L. Vincenti, M. C. Amundson, and P. M. Fricke. 2012. Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and for treatment with GnRH at the time of insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:7115-7127.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. Theriogenology 52:1067-1078.
- Walker, W. L., R. L. Nebel, and M. L. McGilliard. 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. J. Dairy Sci. 79:1555-1561.
- Wilmut, I. and R. H. F. Hunter. 1984. Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in estrus. Reprod. Nut. and Dev. 24:461-468.
- Xu, Z. Z., D. J. McKnight, R. Vishwanath, C. J. Pitt, and L. J. Burton. 1998. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. J. Dairy Sci. 81:2890-2896.

ENGLISH VERSION

Considerations and Limitations of Reproductive Activity Meters

P. M. Fricke, A. Valenza, G. Lopes Jr., M. C. Amundson, and J. O. Giordano

Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison

INTRODUCTION

Despite the widespread adoption of hormonal synchronization protocols that allow for timed artificial insemination (**TAI**), detection of behavioral estrus continues to play an important role in the overall reproductive management program on most dairies in the U.S. (Caraviello *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2007). Several challenges for estrus detection on farms include attenuation of the duration of estrous behavior associated with increased milk production near the time of estrus resulting in shorter periods of time in which to visually detect estrous behavior (Lopez *et al.*, 2004), low number of cows expresing standing estrus (Lyimo *et al.*, 2000; Roelofs *et al.*, 2005; Palmer *et al.*, 2010), silent ovulations (Thatcher and Wilcox, 1973; Palmer *et al.*, 2010; Ranasinghe *et al.*, 2010), and reduced expression of estrous behavior due to confinement (Palmer *et al.*, 2010). Whatever the cause, the low efficiency of estrus detection not only increases time from calving to first AI but increases the average interval between AI services (Stevenson and Call, 1983) thereby limiting the rate at which cows become pregnant.

Because of the impact of AI service rate on reproductive performance and the problems associated with visual estrus detection on farms, many technologies have been developed to enhance estrus detection by providing continuous surveillance of behavior including rump-mounted devices and androgenized females (Gwazdauskas *et al.*, 1990), pedometry (Peralta *et al.*, 2005; Roelofs *et al.*, 2005), and radiotelemetry (Walker *et al.*, 1996; Dransfield *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998). New electronic systems that incorporate accelerometers as a means to associate increased physical activity with estrous behavior in cattle (Holman *et al.*, 2011; Jónsson *et al.*, 2011) have been developed and marketed to the dairy industry. Whereas a large body of literature exists on the accuracy and efficacy of using various technologies to predict ovulation and timing of AI in relation to ovulation in lactating dairy cows, no other studies have investigated accelerometers for such purposes.

We recently conducted a series of experiments in collaboration with a commercial dairy farm in Wisconsin to assess the accuracy of an activity monitoring system for timing of AI in relation to ovulation (Valenza *et al.*, 2012) and to incorporate an activity monitoring system into a reproductive management program for first AI (Fricke *et al.*, 2012). The collaborating dairy was typical of a large confinement-based dairy in the upper Midwest region of the U.S. The farm was milking approximately 1,000 cows which were housed in free-stall barns with ad-libitum access to feed and water. Cows were fed a total mixed ration once daily that was formulated to meet or exceed NRC requirements for high producing lactating dairy cows (NRC, 2001). Cows were milked three times daily and averaged ~41 kg of milk per day throughout the course of the two experiments.

At approximately 14 d after calving, all cows were fitted with an activity tag (Heatime, SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) attached to a neck collar. After each milking, data collected by the activity monitoring system was read by a transceiver unit placed in an archway at the milking parlor exit and transferred to the activity monitoring system herd management software (DataFlow I™ version 4.7; SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) installed on an on-farm computer. All settings of the activity monitoring system software were those being used by the farm at the time of the experiments, and software settings were not changed throughout the course of the experiments. The activity monitoring system continuously monitored individual cow activity and recorded average activity for 2 h time periods. The raw activity of individual cows was plotted as a bar graph where each bar represented a 2 h block of time. Using a mathematical algorithm, a weighted activity index was calculated by the software that expressed the momentary deviation of the activity from the average activity in the same time period during the past 7 d, and weighted activity was represented on the activity report by a solid line. Pregnancy outcomes are presented as pregnancies per AI (**P/AI**) evaluated a pregnancy diagnosis at a given day post insemination.

Experiment 1 - Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and for treatment with GnRH at the time of insemination in lactating dairy cows.

To assess the use of an accelerometer system for reproductive management, lactating Holstein cows from a commercial dairy farm located in southwestern Wisconsin milking approximately 1,000 cows were used in a field trial, which was performed from August, 2010 to June, 2011 (Valenza *et al.*, 2012). At 14 d after calving, all cows were fitted with an accelerometer (Heatime®, SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel) attached to a neck collar and an electronic identification tag. After each milking, data

collected by the accelerometer was read by a transceiver unit placed in an archway at the milking parlor exit and then transferred to the accelerometer herd management software (Data Flow™; Micro Dairy Logic, Amarillo, TX) installed on the on-farm computer. The accelerometer system continuously monitored individual cow activity and recorded average activity for 2 h time periods. The raw activity of individual cows was plotted as a bar graph where each bar represented a 2 h block of time. The onset of activity was defined as the time at which the first bar of raw activity of an estrus event was identified. Duration of activity was defined has the time interval between the beginning and end of activity for an estrus event. Twice daily (a.m. and p.m.), a list of cows determined by the accelerometer system to be eligible for insemination was generated, and cows appearing on the list generated by the accelerometer system were inseminated. Thus, inseminations were conducted twice daily (a.m. and p.m.) by two herd personnel with each cow receiving a single insemination based on activity.

Each week, cohorts of 10 to 15 cows from 46 to 52 DIM were evaluated by transrectal ultrasonography to determine uterine health and record ovarian structures. Cows without signs of uterine disease and at least one follicle ≥ 10 mm in diameter received an i.m. injection of GnRH followed by an i.m. injection of $PGF_{2\alpha}$ 7 d later to synchronize estrus (Figure 1). Transrectal ultrasonography was performed at the time of the $PGF_{2\alpha}$ injection for subsequent determination of ovulatory response to GnRH treatment. A total of 112 cows were enrolled, but only 89 cows that were considered properly synchronized were included in the analyses. Transrectal ultrasonography was performed at the time of the $PGF_{2\alpha}$ injection for subsequent determination of ovulatory response to GnRH treatment. Diameter of ovarian structures was estimated and recorded using on-screen background gridlines comprising squares with 10 mm sides in the portable scanner. Ovulation was defined as the presence of a follicle ≥ 10 mm at the initial ultrasound examination at the time of the GnRH injection and the presence of a new corpus luteum in the same location at the subsequent ultrasound examination at the time of the $PGF_{2\alpha}$ injection. Thereafter, ovarian ultrasonography was performed 48 h after the $PGF_{2\alpha}$ injection and then every 8 h until ovulation occurred or until 96 h, whichever occurred first. Cows failing to ovulate within 96 h of the $PGF_{2\alpha}$ injection were re-examined 3 d later (i.e., 7 d after the $PGF_{2\alpha}$ injection) to determine whether ovulation had occurred.

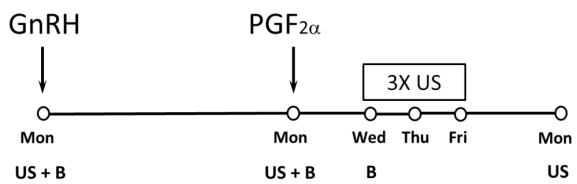


Figure 1. Diagram of experimental activities. Cows from 46 to 52 d postpartum received a G-P protocol to synchronize estrus using i.m. injections of GnRH (100 µg) and $PGF_{2\alpha}$ (25 mg). Transrectal ultrasonography (US) was used to assess ovarian structures during the protocol and time of ovulation after induction of luteolysis, and blood samples (B) were collected to assess serum progesterone (from Valenza *et al.*, 2012).

RESULTS

The percentage of cows with estrus events detected by the accelerometer system and the distribution of cows by occurrence of estrus and ovulation are presented in Table 1. Throughout the study period, 78% of cows ovulated within 7 d after induction of luteolysis. Of the cows that ovulated, 59% ovulated within 96 h, whereas 41% ovulated from 96 to 168 h (4 to 7 d) after induction of luteolysis. Overall, 71% of cows were detected in estrus by the accelerometer system, and 95% of cows showing estrus ovulated whereas 5% did not ovulate within 7 d of induction of luteolysis. Of the cows not detected in estrus by the accelerometer system, 35% ovulated whereas 65% did not ovulate within 7 d of induction of luteolysis.

Table 1. Percentage of cows determined to be in estrus, and distribution of cows by estrous activity and ovulation after induction of luteolysis based on use of an accelerometer system[1] (adapted from Valenza *et al.*, 2012).

Activity and ovulation responses of cows after induction of luteolysis	% (n)
Cows with estrous activity	71 (89)
Cows that ovulated	95 (63)
Cows with no ovulation	5 (63)
Cows with no estrous activity	29 (89)
Cows that ovulated	35 (26)
Cows with no ovulation	65 (26)

[1]Heatime®, SCR Engineers, Ltd., Netanya, Israel.

The duration of estrus activity for cows detected in estrus by the accelerometer system (16.1 ± 4.7 h, range = 4.0 to 28.0; Figure 2) was not affected (P = 0.74) by parity (16.4 vs. 17.2 h for primiparous and multiparous, respectively) or milk production near the time of estrus (P = 0.51). The duration of estrus observed in this experiment is comparable to the mean duration (13.4 h) reported for cows monitored for estrus by visual observation of both primary (standing to be mounted) and multiple secondary signs of estrous behavior (Roelofs *et al.*, 2004). Conversely, duration of estrus activity observed in the present experiment is considerably longer than the mean duration of estrus based on the interval between the first and last standing event of estrus detected using an electronic pressure-sensing system (Dransfield *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998). Discrepancies between the duration of estrus based on activity or visual observation with that recorded based on standing events are possibly due to the uncoupling of expression of secondary signs of estrus behavior and standing estrus. Indeed, Sveberg *et al.*, (2011) reported that secondary signs of estrous behavior, which can certainly be detected by visual observation or increased activity, increased significantly within 1 to 3 h before the initiation of standing estrus in lactating dairy cows.

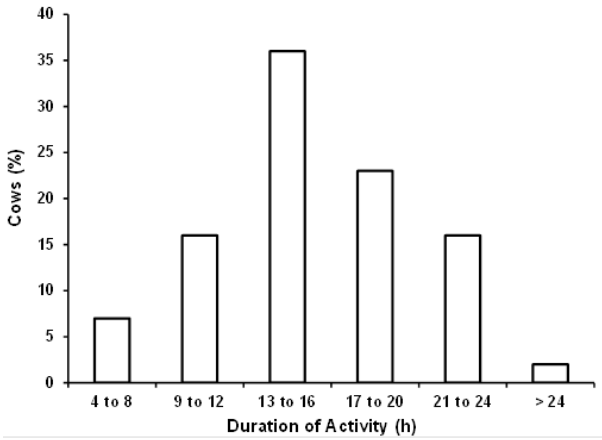


Figure 2. Distribution of cows based on duration of activity associated with estrus for cows detected in estrus by an accelerometer system (Heatime®) within 7 d after synchronization of estrus (from Valenza *et al.*, 2012).

We did not expect that ~30% of cows would fail to show estrus within 7 d after the $PGF_{2\alpha}$ injection because a follicle >10 mm was present in all cows at the time of the $PGF_{2\alpha}$ injection, and all cows included in the analysis underwent luteal regression within 48 h after $PGF_{2\alpha}$ treatment. In another study in which cows received two sequential $PGF_{2\alpha}$ injections at 35 and 49 DIM, only 67.9% of cows determined to be cycling by 49 DIM were detected in estrus and inseminated after the second $PGF_{2\alpha}$ injection leading the authors to conclude that issues other than cyclicity status affected efficiency and accuracy of estrus detection (Chebel and Santos, 2010). The percentage of cows that failed to ovulate within the group of cows not detected in estrus was 65% for the accelerometer system suggesting that estrus did not occur in these cows. The remaining 35% of ovulations in cows not detected in estrus may have been silent ovulations (ovulation without estrus), a phenomena described in lactating dairy cows especially during the early postpartum period (Thatcher and Wilcox, 1973; Palmer *et al.*, 2010; Ranasinghe *et al.*, 2010). In addition, 5% of cows detected in estrus failed to ovulate within 7 d after induction of luteolysis. The overall rate of ovulation failure in lactating dairy cows that showed estrus behavior was 6.5% and was greater during the warm than during the cool season (López-Gatius *et al.*, 2005). This rate of ovulation failure represents a small percentage of the population of cows in this experiment and could occur due to failure in the mechanism triggering ovulation (i.e. no LH surge or insufficient LH secretion) or a lack of response by the dominant follicle to the LH surge.

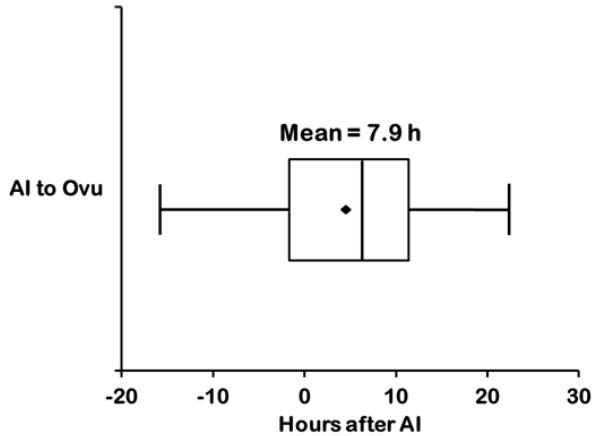


Figure 3. Whisker graph of the interval from AI to ovulation (n = 38 cows). AI was conducted twice daily based on cows detected in estrus by an accelerometer system (Heatime®). Ovulation was determined using transrectal ultrasonography conducted every 8 h from 48 to 96 h after induction of luteolysis. Cows were synchronized using an i.m. injection of GnRH (100 µg) followed 7 d later by induction of luteolysis using $PGF_{2\alpha}$ (25 mg).

Due to the short lifespan of the oocyte in cattle (Hunter, 2003), the interval from AI to ovulation is critical for optimizing fertility in lactating dairy cows inseminated after estrus. In the present study, the mean interval from AI to ovulation was 7.9 h (Figure 3). This mean interval may seem appropriate because it allows for the 6 to 8 h required for the sustained phase of sperm transport to the site of fertilization and sperm capacitation (Hunter and Wilmut, 1983; Wilmut and Hunter, 1984; Hawk, 1987); however, the degree of variation in the AI to ovulation interval (Figure 3) is a major concern. Overall, 21% of cows received AI between 0 to 12 h after ovulation, a timing associated with low fertilization rates and embryo quality in lactating dairy cows (Roelofs *et al.*, 2006) possibly due to aging of the oocyte during the period required for sperm transport and capacitation. By contrast, only 1 cow was inseminated more than 24 h before ovulation, a period that results in high fertilization rates but low embryo quality possibly due to aging of the spermatozoa (Roelofs *et al.*, 2006). Based on these data, it may be helpful to either reduce the variation in the AI to ovulation interval so that more cows are inseminated at the optimal time in relation to ovulation or alternatively to inseminate cows a few hours earlier to reduce the probability of inseminating cows after or around the time of ovulation when detected in estrus using the accelerometer system.

Experiment 2 - Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an activity monitoring system.

A combined approach in which AI is based both on activity detected by an activity monitoring system followed by submission of cows not detected with activity to timed AI after synchronization of ovulation may be an effective and economical strategy to submit lactating dairy cows for first AI. A field trial was conducted to compare reproductive performance of lactating dairy cows managed for first AI using timed AI with or without detection of estrus using an activity monitoring system (Fricke *et al.*, 2012). All cows were administered 2 i.m. injections of $PGF_{2\alpha}$ 14 days apart (Presynch) at 39 ± 3 and 53 ± 3 DIM to presynchronize their estrous cycles 12 days before submission to an Ovsynch protocol, and activity was monitored

in all cows using an activity monitoring system (Heatime, SCR Engineers Ltd., Netanya, Israel) beginning at 24 ± 3 DIM. Cows in treatment 1 (n=333) with increased activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection were inseminated based on activity, whereas cows without increased activity were submitted to an Ovsynch protocol beginning 12 d after the second PGF2α injection of the presynchronization protocol and received a timed AI at 75 ± 3 days in milk. Cows in treatment 2 (n=331) with increased activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection were recorded by the activity monitoring system software but were not inseminated so that all cows in treatment 2 completed the Presynch-Ovsynch protocol and received a timed AI at 75 ± 3 days in milk regardless of whether or not they were detected with increased activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection.

Table 2. Effect of treatment on percentage of lactating Holstein cows with activity based on an activity monitoring system, and pregnancies per AI (P/AI) for cows with or without activity and inseminated to activity (AI) or inseminated after synchronization of ovulation (TAI). Adapted from Fricke *et al.*, 2012.

	Treatment	
Item	1	2
Cows with detected activity, % (n/n)	69 (230/335)	70 (232/331)
P/AI 35 d after AI, % (n/n)		
Cows with activity receiving AI	30[a] (68/230)	-
Cows with activity receiving TAI	-	41[b] (96/232)
Cows with no activity receiving TAI	36 (37/104)	35 (35/99)
Overall P/AI 35 d after AI, % (n/n)	32[c] (105/333)	40[d] (131/331)
P/AI 67 d after AI, % (n/n)		
Cows with activity receiving AI	27 (62/230)	-
Cows with activity receiving TAI	-	40 (92/232)
Cows with no activity receiving TAI	33 (34/104)	35 (35/99)
Overall P/AI 67 d after AI, % (n/n)	29[c] (96/333)	38[d] (127/331)

[a,b]Within a treatment by activity subgroup, statistical contrast differed (P = 0.004).

[c,d]Within a row, percentages with different superscripts differed (P = 0.0454).

[1]Treatments were: 1) cows inseminated based on an activity monitoring system after a presynchronization protocol with cows not detected with activity receiving TAI after synchronization of ovulation using an Ovsynch protocol; 2) cows receiving TAI after a Presynch-Ovsynch protocol.

The activity monitoring system detected increased activity in 69% and 70% of cows after the second $PGF_{2\alpha}$ injection in treatments 1 and 2, respectively (Table 2) which is about 10 to 15 percentage points greater than that reported in studies using tail chalk after the second $PGF_{2\alpha}$ injection of a Presynch-Ovsynch protocol (Stevenson and Phatak, 2005; Chebel and Santos, 2010). Overall, cows in treatment 1 in which inseminations occurred as a combination between AI to activity and timed AI had fewer P/AI compared to cows in treatment 2 in which all cows received timed AI after completing the Presynch-Ovsynch protocol (Table 2). The reduction in P/AI due to inseminating cows with increased activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection was expected because the increase in P/AI due to presynchronization with $PGF_{2\alpha}$ likely results from synchronizing estrus after the second $PGF_{2\alpha}$ injection (Navanukraw *et al.*, 2004) so most cows initiate the Ovsynch protocol on days 5 to 9 of the ensuing estrous cycle thereby improving P/AI to timed AI (Vasconcelos *et al.*, 1999). Inseminating 70% of cows based on activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection removed the presynchronized cows from the protocol thereby negating the increase in P/AI due to presynchronization. Cows without increased activity after the second $PGF_{2\alpha}$ injection and submitted to an Ovsynch protocol had P/AI of 33% and 35% for treatments 1 and 2, respectively (Table 2). Pregnancy outcomes of anovular cows subjected to an Ovsynch protocol is generally about 20% compared to about 35% for cycling cows starting an Ovsynch protocol at a random stage of the cycle (Gümen *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2008). Thus, cows without activity that received an Ovsynch protocol had a P/AI similar to that of cycling cows starting an Ovsynch protocol at a random stage of the cycle. Thus, aggressive submission of cows to an Ovsynch protocol after failing to be detected with increased activity is an effective management strategy to establish pregnancy in this subgroup of cows.

Overall, 31% of cows in treatment 1, and 100% of cows in treatment 2 were submitted to the Ovsynch portion of the synchronization protocol, and blood samples were collected from a subgroup (~85%) of cows in each treatment at the first GnRH injection of the Ovsynch protocol to determine progesterone concentration at the onset of the protocol (Fricke *et al.*, 2012). Surprisingly, over 50% of these cows had progesterone concentrations ≥ 1 ng/mL at the first GnRH injection of the protocol, and similar results were observed for cows in treatment 2 that were not detected with activity after presynchronization. Thus, many cows without activity after presynchronization likely ovulated in the absence of detectable activity resulting in high progesterone at the first GnRH injection of the Ovsynch protocol. These results agree with the 10% of cows that ovulated but failed to be detected with activity by the activity monitoring system (Valenza *et al.*, 2012; Table 1). Results from Fricke *et al.* (2012) support a management strategy in which the 30% of cows not detected with activity are aggressively submitted to an Ovsynch protocol rather than continuing to detect activity using an activity monitoring system.

CONCLUSION

A practical implication of these data is that only two thirds of the cows that were considered properly synchronized would have been inseminated based on the accelerometer system and would go on to ovulate after AI. The remaining cows either would not be inseminated because they were not detected in estrus or would not have a chance to conceive to AI because they would fail to ovulate after estrus. These data underscore the importance of implementing a comprehensive reproductive management program for identification and treatment of cows that would otherwise not be inseminated and to identify those cows failing to ovulate when cycling spontaneously. Based on data from the present experiment using this accelerometer system, the mean time of AI in relation to ovulation was acceptable for most of the cows detected in estrus; however, variability in the duration of estrus and timing of AI in relation to ovulation could lead to poor fertility in some cows.

REFERENCES

- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, M. J. Florent, N. B. Cook, K. V. Nordlund, N. R. Zwald, and C. L. Rawson. 2006. Survey of management practices

on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. J. Dairy Sci. 89:4723-4735.

- Chebel, R. C. and J. E. Santos. 2010. Effect of inseminating cows in estrus following a presynchronization protocol on reproductive and lactation performances. J. Dairy Sci. 93:4632-4643.
- Dransfield, M. B., R. L. Nebel, R. E. Pearson, and L. D. Warnick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. J. Dairy Sci. 81:1874-1882.
- Fricke, P. M., A. Valenza, J. O. Giordano, M. C. Amundson, and G. Lopes Jr. 2012. Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an accelerometer system. J. Dairy Sci. 95(Suppl. 2):74.
- Gumen, A. J. N. Guenther, and M. C.Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3184-3194.
- Gwazdauskas, F. C., R. L. Nebel, D. J. Sprecher, W. D. Whittier, and M. L. McGilliard. 1990. Effectiveness of rump-mounted devices and androgenized females for detection of estrus in dairy cattle. J. Dairy Sci. 73:2965-2970.
- Hawk, H. W. 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. J. Dairy Sci. 70:1487-1503.
- Holman, A., J. Thompson, J. E. Routly, J. Cameron, D. N. Jones, D. Grove-White, R. F. Smith, and H. Dobson. 2011. Comparison of estrus detection methods in dairy cattle. Vet. Rec. 169:47.
- Hunter, R. H. F. 2003. The process of ovulation and sheeding of an oocyte. Pages 262-286 in Physiology of the graafian follicle and ovulation. Cambridge University Press.
- Jónsson, R., M. Blanke, N. K. Poulsen, F. Caponetti, and S. Højsgaard. 2011. Estrus detection in dairy cows from activity and lying data using on-line individual models. Computers and Electronics in Agriculture 76:6-15.
- López-Gatius, F., M. López-Béjar, M. Fenech, and R. H. F. Hunter. 2005. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. Theriogenology 63:1298-1307.
- Lyimo, Z. C., M. Nielen, W. Ouweltjes, T. A. Kruip, and F. J. van Eerdenburg. 2000. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. Theriogenology 53:1783-1795.
- Miller, R. H., H. D. Norman, M. T. Kuhn, J. S. Clay, and J. L. Hutchison. 2007. Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. J. Dairy Sci. 90:1594-1606.
- Navanukraw, C., L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer, and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87:1551-1557.
- Palmer, M. A., G. Olmos, L. A. Boyle, and J. F. Mee. 2010. Estrus detection and estrus characteristics in housed and pastured Holstein-Friesian cows. Theriogenology 74:255-264.
- Peralta, O. A., R. E. Pearson, and R. L. Nebel. 2005. Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. Anim. Reprod. Sci. 87:59-72.
- Ranasinghe, R. M., T. Nakao, K. Yamada, and K. Koike. 2010. Silent ovulation, based on walking activity and milk progesterone concentrations, in Holstein cows housed in a free-stall barn. Theriogenology 73:942-949.
- Roelofs, J. B., E. G. Bouwman, S. J. Dieleman, F. J. Van Eerdenburg, L. M. Kaal-Lansbergen, N. M. Soede, and B. Kemp. 2004. Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around estrus and ovulation in dairy cattle. Theriogenology 62:1337-1352.
- Roelofs, J. B., E. A. Graat, E. Mullaart, N. M. Soede, W. Voskamp-Harkema, and B. Kemp. 2006. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. Theriogenology 66:2173-2181.
- Roelofs, J. B., F. J. van Eerdenburg, N. M. Soede, and B. Kemp. 2005. Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology 64:1690-1703.
- Stevenson, J. S., D. E. Tenhouse, R. L. Krisher, G. C. Lamb, C. R. Dahlen, J. R. Pursley, N. M. Bello, P. M. Fricke, M. C. Wiltbank, D. J. Brusveen, M. Burkhart, R. S. Youngquist, and H. A. Garverick. 2008. Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. J. Dairy Sci. 91:2901-2915.
- Stevenson, J. S. and E. P. Call. 1983. Influence of early estrus, ovulation, and insemination on fertility in postpartum Holstein cows. Theriogenology 19:367-375.
- Stevenson, J. S. and A. P. Phatak. 2005. Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. J. Dairy Sci. 88:399-405.
- Sveberg, G., A. O. Refsdal, H. W. Erhard, E. Kommisrud, M. Aldrin, I. F. Tvete, F. Buckley, A. Waldmann, and E. Ropstad. 2011. Behavior of lactating Holstein-Friesian cows during spontaneous cycles of estrus. J. Dairy Sci. 94:1289-1301.
- Thatcher, W. W. and C. J. Wilcox. 1973. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. J. Dairy Sci. 56:608-610.
- Valenza, A., J. O. Giordano, G. Lopes Jr., L. Vincenti, M. C. Amundson, and P. M. Fricke. 2012. Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and for treatment with GnRH at the time of insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:7115-7127.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. Theriogenology 52:1067-1078.
- Walker, W. L., R. L. Nebel, and M. L. McGilliard. 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. J. Dairy Sci. 79:1555-1561.
- Wilmut, I. and R. H. F. Hunter. 1984. Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in estrus. Reprod. Nut. and Dev. 24:461-468.
- Xu, Z. Z., D. J. McKnight, R. Vishwanath, C. J. Pitt, and L. J. Burton. 1998. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. J. Dairy Sci. 81:2890-2896.

¿CUÁLES SON TUS ESTRATEGIAS PREFERIDAS PARA CONTROLAR LA DERMATITIS DIGITAL?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

INTRODUCCIÓN

La dermatitis Digital (DD) sigue siendo una importante causa de cojera en el mundo; en el Reino Unido, alrededor del 40% de las lesiones registradas en las explotaciones lo son por procesos infecciosos. El ciclo de infección y re-infección es bien reconocido, donde las lesiones M2 "activas" se caracterizan por lesiones ulcerativas dolorosas y las lesiones agudas "crónicas" M4 dyskeratotic o lesiones proliferativas parecen ser un importante reservorio para la re-infección (Dopfer *et al.*, 1997; Berry *et al.*, 2012).

Controlar la dermatitis digital

Esta conversación girará en torno a estrategias prácticas para gestionar la DD, que abarcan tanto el tratamiento y manejo de las lesiones individuales como los criterios generales utilizados en las explotaciones para controlar la dermatitis digital. Las lesiones M2 deberían ser tratadas de forma individual, mientras que el resto del rebaño (incluyendo lesiones M4) debe ser tratadas mediante un pediluvio. Los recientes avances y recomendaciones basados en la evidencia de los pediluvios son discutibles, y además, se discutirá el papel de la formalina en el control futuro de las causas infecciosas de la cojera, así como algunas posibles alternativas.

Los siete factores principales para el éxito del pediluvio son los siguientes: 1) Frecuencia 2) Flujo de vacas 3) Dilución 4) Químicos 5) Grupos 6) Facilidad de uso 7) Longevidad. Se darán ejemplos prácticos, incluyendo ejemplos donde los veterinarios y asesores agrícolas pueden hacer una contribución positiva a los niveles de las enfermedades infecciosas en la comunidad.

Además, se discutirá el Plan de cinco puntos recientemente formulado para afrontar la Dermatitis Digital: 1) La bioseguridad externa para mantener la enfermedad fuera de la granja, 2) La bioseguridad interna para minimizar la presión de la infección en las vacas, 3) La identificación precoz, registro y tratamientos de casos clínicos, en asociación con el cuidado de pezuñas, 4) La desinfección frecuente de las pezuñas para reducir el número de nuevos casos, 5) Definir y supervisar los objetivos de salud de las pezuñas.

La obligación de actuar sobre la dermatitis digital

La gente suele preguntar, "¿Cuál es la causa más importante de cojera?". Esta pregunta es casi imposible de responder definitivamente y podrían variar entre -por ejemplo- la explotación, el sistema de producción y el país. Desde un punto de vista económico, las lesiones de pezuña están asociadas a la mayor reducción en la producción de leche (Willshire and Bell, 2009) y predisponen en gran medida al ganado a una cojera futura (Randall *et al.*, 2015). Por otra parte, en algunos informes la DD son la causa más común de cojera y sabemos que las lesiones de pezuñas infectadas con DD son una razón importante para la reparación y la dificultad en la cicatrización. Por lo tanto, la pregunta no tiene respuesta directa. Sin embargo, si hacemos la pregunta "qué causa de cojera podemos abordar, tratar y prevenir sin alteraciones importantes en la infraestructura y de la rutina de la granja, y sin tiempo adicional para dedicarle?" La respuesta sería DD. El propósito de esta ponencia es, por lo tanto, esbozar los puntos de control que pueden ser adaptados a cualquier comunidad con un problema de DD para ayudar a controlar el problema del DD.

- Berry, S. L., Read, D. H., Famula, T. R., Mongini, A. and Döpfer, D. (2012) 'Long-term observations on the dynamics of bovine digital dermatitis lesions on a California dairy after topical treatment with lincomycin HCl', *Vet. J.*, 193(3), pp. 654–658. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.048.
- Dopfer, D., Koopmans, A., Meijer, F. A., Szakall, I., Schukken, Y. H., Klee, W., Bosma, R. B., Cornelisse, J. L., vanAsten, A. and terHuurne, A. (1997) 'Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and Campylobacter faecalis', *Vet. Rec.*, 140(24), pp. 620–623.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', *J. Dairy Sci.*, 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Willshire, J. A. and Bell, N. J. (2009) 'An economic review of cattle lameness', *Cattle Pract.*, 17(2), pp. 136–141.

ENGLISH VERSION

What are your preferred strategies to control digital dermatitis?

Dr Reuben Newsome BVMBVS BVMedSci PhD MRCVS

Cattle Lameness Academy, Synergy Farm Health Ltd, Dorset, UK

INTRODUCTION

Digital Dermatitis (DD) remains a major cause of lameness worldwide; in the UK, around 40% of lesions recorded on farm relate to an infectious cause. The cycle of infection and re-infection is well recognised, where the "active" M2 lesions are characterised by acute painful ulcerative lesions and "chronic" M4 dyskeratotic or proliferative lesions appear to be a major reservoir for re-infection (Dopfer *et al.*, 1997; Berry *et al.*, 2012).

Controlling digital dermatitis

This talk will revolve around practical strategies for managing DD, covering both the treatment and management of individual lesions and overall farm approaches to controlling DD. M2 lesions should be treated on an individual basis while the rest of the herd (including M4 lesions) should be managed using a footbath. Recent advances and evidence based recommendations for foot-bathing are discussed, and additionally the role of formalin in the future control of infectious causes of lameness will be discussed as well as some possible alternatives.

Seven major success factors for foot-bathing are as follows: 1) Frequency 2) Cow Flow 3) Dilution 4) Chemical 5) Groups 6) Ease of use 7) Longevity. Practical examples will be given,

including examples of where vets and farm advisers can make a positive contribution to the levels of infectious disease on farm.

Additionally, the recently formulated Five Point Plan for tackling DD will be discussed: 1) External biosecurity to keep disease out of farm, 2) Internal biosecurity to minimise infection pressure on cows, 3) Early identification, recording and treatment of clinical cases, in association with hoof care, 4) Frequent foot disinfection to reduce new cases, 5) Define and monitor hoof health targets.

An obligation to act on digital dermatitis

People often ask, "What is the most important cause of lameness?" This question is almost impossible to definitively answer and might vary between – for example – farm, production system and country. From an economic point of view, the claw horn lesions are associated with the greatest reduction in milk yield (Willshire and Bell, 2009) and greatly predispose cattle to future lameness (Randall *et al.*, 2015). On the other hand, in some reports DD is the most common cause of lameness and we know that claw horn lesions becoming infected with DD is a major reason for re-occurrence and difficulty healing. So the question has no straightforward answer. However, if we ask the question "Which cause of lameness can we address, treat and prevent without major alterations to farm infrastructure and routine, and without extra time investment?" the answer would be DD. The purpose of this talk is therefore to outline control points which could be adapted to any farm with a DD problem to help bring DD under control.

- Berry, S. L., Read, D. H., Famula, T. R., Mongini, A. and Döpfer, D. (2012) 'Long-term observations on the dynamics of bovine digital dermatitis lesions on a California dairy after topical treatment with lincomycin HCl', Vet. J., 193(3), pp. 654–658. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.048.
- Dopfer, D., Koopmans, A., Meijer, F. A., Szakall, I., Schukken, Y. H., Klee, W., Bosma, R. B., Cornelisse, J. L., vanAsten, A. and terHuurne, A. (1997) 'Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and Campylobacter faecalis', Vet. Rec., 140(24), pp. 620–623.
- Randall, L. V, Green, M. J., Chagunda, M. G. G., Mason, C., Archer, S. C., Green, L. E. and Huxley, J. N. (2015) 'Low body condition predisposes cattle to lameness: An 8-year study of one dairy herd', J. Dairy Sci., 98(6), pp. 3766–3777. doi: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8863.
- Willshire, J. A. and Bell, N. J. (2009) 'An economic review of cattle lameness', Cattle Pract., 17(2), pp. 136–141.

GESTIÓN DE PARTOS GEMELARES EN VACAS LECHERAS

Paul M. Fricke, Ph.D., Professor of Dairy Science

Departamento de Ciencias Lácteas de la Universidad de Wisconsin-Madison

RESUMEN

Los partos gemelares en vacas lecheras Holstein ha ido en aumento con el tiempo, coincidiendo con el incremento de la producción de leche. Más del 95% de los gemelos en vacas Holstein surgen de ovulaciones dobles que resultan en gemelos dicigóticos. Ahora está claro que el bajo nivel de progesterona durante el crecimiento de un folículo preovulatorio aumenta la incidencia de la doble ovulación. Un aumento del metabolismo hepático de la progesterona como resultado de la mayor ingesta de alimentos asociado con la producción de leche proporciona un mecanismo fisiológico para la disminución de los niveles de progesterona en vacas lecheras de alta producción resultando en un incremento en gemelos dicigóticos. Los partos gemelares probablemente seguirán aumentando a la vez que la producción de leche a lo largo del tiempo, por lo que es necesario identificar e implementar estrategias para gestionar eficazmente los partos gemelares en las vacas lecheras. Las vacas con gemelos unilaterales presentaron más casos de pérdida del embarazo en comparación con las vacas llevando gemelos bilaterales, que presentaban pérdidas similares a las vacas Holsteins en general, y los gemelos bilaterales presentaron mayores tasas de supervivencia y de peso corporal al nacer, una mayor duración de la gestación, y menos casos de distocia que los gemelos unilaterales. La reducción embrionaria selectiva mediante la ruptura manual del amnios seguida por un tratamiento de progesterona no aumentó el riesgo de la pérdida del embarazo en vacas con gemelos unilaterales pero si aumentó el riesgo de pérdida para las vacas con gemelos bilaterales. Los protocolos de sincronización hormonales que aumentan la progesterona durante el desarrollo del folículo preovulatorio aumentan la tasa de concepción, disminuyen la pérdida del embarazo, y disminuyen la tasa de doble ovulación, reduciendo así los casos de gestaciones gemelares en vacas lecheras de alta producción. Las gestaciones gemelares pueden disminuirse en vacas lecheras de alta producción mediante un enfoque doble. En primer lugar, la incidencia de la doble ovulación y de gemelos dicigóticos puede disminuirse en las vacas Holstein de alta producción manipulando la función ovárica para aumentar la progesterona durante el crecimiento del folículo preovulatorio antes de la IA a tiempo fijo. En segundo lugar, las vacas identificadas con gemelos bilaterales mediante ecografía transrectal al principio de la gestación deben poder seguir con la gestación y tener una ayuda adicional en el momento del parto, mientras que la reducción selectiva se puede intentar en vacas diagnosticadas con gemelos unilaterales.

INTRODUCCIÓN

En 2001, publiqué una revisión de la literatura científica sobre el tema de las gestaciones gemelares en el ganado lechero (Fricke, 2001). Mi propósito era resumir los factores causales asociados con las gestaciones gemelares para identificar estrategias de gestión basadas en datos tomados de experimentos controlados que podrían mitigar los efectos negativos de las gestaciones gemelares. En el momento de esta revisión, los datos epidemiológicos apoyaban la idea de que la incidencia las gestaciones gemelares en vacas lecheras Holstein en los EE.UU. ha aumentado a lo largo del tiempo (Kinsel *et al.*, 1998). Desde una perspectiva económica en los EE.UU., la pérdida de ingresos debida a las gestaciones gemelares se estimó en 55 millones de dólares por año (Johanson *et al.*, 2001). Mientras la gestación gemelar ha seguido aumentando con los años, los efectos negativos de las gestaciones gemelares sobre los terneros nacidos como gemelos, sobre las vacas que paren gemelos, y la consiguiente disminución en la rentabilidad de las granjas lecheras (Fricke *et al.*, 2001) han empeorado y seguirá siendo un problema reproductivo para las vacas lecheras en el futuro.

Los experimentos controlados para ensayar estrategias para mitigar los efectos negativos de las gestaciones gemelares en vacas lecheras no existían hace 15 años, y terminé mi revisión afirmando que los ganaderos y sus asesores no estaban preparados para tomar buenas decisiones de gestión para mitigar los efectos negativos de las gestaciones gemelares en sus explotaciones debido a la falta de datos científicos sobre estrategias de gestión probadas encaminadas a mitigar los efectos negativos de las gestaciones gemelares (Fricke, 2001). Durante los últimos 15 años, se han publicado muchos experimentos sobre la gestación gemelar en vacas lecheras que han llenado muchas de las lagunas en nuestros conocimientos. El propósito de esta revisión es actualizar y ampliar mi examen inicial sobre las gestaciones gemelares en el ganado lechero y determinar si ahora podemos hacer recomendaciones de gestión basadas en la investigación para mitigar o incluso evitar los impactos negativos de las gestaciones gemelares en las vacas lecheras.

La Tendencia a las Gestaciones Gemelares en el Tiempo

Sobre la base de un estudio epidemiológico sobre las gestaciones gemelares publicado en 1998 (Kinsel *et al.*, 1998), las gestaciones gemelares en EE.UU., aumentaron en un período de 10 años desde 1983 hasta 1993. Los autores identificaron el aumento simultáneo de la producción de leche durante este período como el único y más importante factor asociado con el aumento en el número de gestaciones gemelares (Kinsel *et al.*, 1998). Para determinar si esta tendencia de aumento en las gestaciones gemelares ha continuado a lo largo del tiempo, hemos analizado y publicado un análisis observacional de nacimientos gemelares en vacas Holstein en la parte superior del Medio Oeste de los Estados Unidos desde 1996 a 2004 (Silva del Rio *et al.*, 2007). Un conjunto de datos de registros de partos de vacas Holstein desde enero de 1996 hasta septiembre de 2004, compuesta por 4,103 hatos con eventos representando a 1,164,233 vacas y 96,069 nacimientos gemelares fue extraída de los archivos del DHIA de Minnesota para evaluar la incidencia de nacimientos gemelares en el tiempo. En general, la media de la tasa de partos gemelares fue del 4.2%, y los partos gemelares incrementaron con la paridad (1,2% nulíparas vs. 5,8% en el caso de vacas multíparas) y con el tiempo (3,4% en 1996 al 4,8% en 2004). En la figura 1 se muestra la tendencia al aumento de las gestaciones gemelares a través del tiempo entre las vacas Holstein en los Estados Unidos desde 1983 a 1993 basado en datos de Kinsel *et al.* (1998) y desde 1996 a 2004, basado en

datos de Silva del Rio *et al.* (2007). Claramente, la incidencia de gestaciones gemelares en vacas Holstein ha aumentado constantemente desde 1983 hasta 2004 (Figura 1). Basándose en esta tendencia de largo plazo, podemos esperar que las gestaciones gemelares en vacas Holstein sigan aumentando.

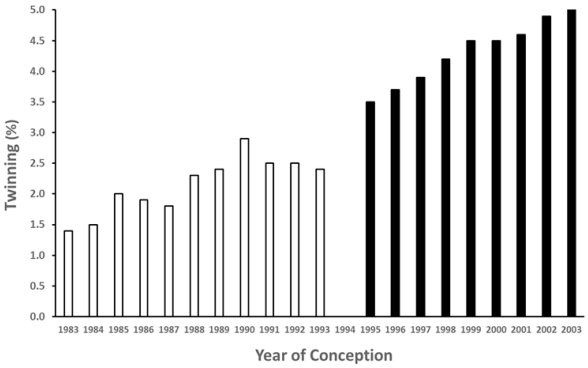


Figura 1. Tendencia de la tasa de gestaciones gemelares en vacas Holstein registrados en los EE.UU. desde 1983 hasta 2003. Los datos incluyen Holsteins no-lactantes y lactantes. Barras abiertas: datos adaptados de Kinsel *et al.*, 1998; barras sólidas: datos adaptados de Silva del Rio *et al.*, 2007.

Una nueva observación sobre la base de nuestro análisis fue una importante interacción de la tasa de paridad y el tiempo sobre las gestaciones gemelares. En el caso de vacas primíparas y multíparas, la tasa de gestaciones gemelares aumentó del 4,0% y 5,2% durante los primeros 12 meses del estudio hasta el 5,9% y el 7,3% durante los últimos 12 meses del estudio, mientras que la tasa de gestaciones gemelares en novillas no-lactantes aumentó solamente desde el 1,1% al 1,3% durante este mismo período de tiempo (Silva del Rio *et al.*, 2007). Aunque no se pueda establecer una relación causal basada en nuestro enfoque epidemiológico, el mayor aumento de las gestaciones gemelares en el tiempo entre las vacas lactantes comparadas con las novillas no-lactantes implica además el aumento simultáneo de la producción de leche como un factor causal asociado con las gestaciones gemelares, como especulaba Kinsel *et al.* (1998).

Los Mecanismos de las Gestaciones Gemelares

Las vacas lecheras son una especie monotoca, lo cual significa que normalmente produce una sola cría por gestación. No obstante, ocasionalmente el proceso reproductivo en las vacas lecheras resulta en gemelos o incluso en trillizos. Las gestaciones gemelares se pueden clasificar en dos tipos: monocigóticos y dicigóticos. Los gemelos monocigóticos (es decir, los gemelos idénticos), se producen con el *desdoblamiento in vivo* de un ovocito fertilizado durante el desarrollo embrionario temprano. Por el contrario, los gemelos dicigóticos (es decir, los gemelos fraternos), vienen de la fecundación de ovocitos de dos folículos que ovula durante el mismo ciclo estral. Se han utilizado modelos matemáticos, incluyendo el Método Diferencial de Weinberg (Weinberg, 1902) y la Ecuación de Bonnier (Bonnier, 1946), para estimar la proporción de gemelos monocigóticos en las vacas lecheras. Como los gemelos monocigóticos son siempre del mismo sexo, estas ecuaciones se basan en el sesgo de la tasa de los sexos desde los gemelos de sexos diferentes y hacia los gemelos del mismo sexo. Estos modelos matemáticos, sin embargo, tienden a sobreestimar la proporción observada de gemelos monocigóticos en las vacas lecheras (Silva del Rio *et al.*, 2006). Hemos realizado un estudio observacional para determinar la incidencia de gemelos monocigóticos en las vacas Holstein y encontramos una frecuencia de gemelos monocigóticos del 7.5% entre gemelos del mismo sexo y del 4,7% entre todos los gemelos (Silva del Rio., 2006; Cuadro 1). Así, las gestaciones gemelares monocigóticos ocurren con poca frecuencia en las vacas Holstein, y el principal mecanismo que lleva a las gestaciones gemelares en las vacas lecheras es la doble ovulación resultando en gemelos dicigóticos (Tabla 1).

Tabla 1. La frecuencia de gestaciones gemelares dicigóticas y monocigóticas en una población de terneros Holstein gemelos determinados empíricamente basadas en marcadores microsatélites polimórficos del ADN (adaptado de Silva del río *et al.*, 2006).

		Clasificación	
Clasificación	n	Dicigóticos, % (n)	Monocigóticos, % (n)
Gemelos del mismo sexo	67	92,5 (62)	7,5 (5)
Gemelos de diferente sexo	40	100,0 (40)	-
Todos los gemelos	107	95,3 (102)	4,7 (5)

La Endocrinología de las Gestaciones Gemelares

La progesterona. La progesterona es el progestágeno más activo desde un punto de vista biológico en las vacas y se produce y secreta principalmente por el cuerpo lúteo durante el ciclo estral y la placenta durante la gestación. Ahora está claro que los bajos niveles de la progesterona durante el crecimiento de un folículo ovulatorio está asociado a una mayor incidencia de la doble ovulación (Wiltbank *et al.*, 2000). Las vacas en las cuales de desarrolla un folículo preovulatorio en ausencia de progesterona del cuerpo lúteo tienen una mayor incidencia de folículos co-dominantes, resultando en una doble ovulación (Hayashi *et al.*, 2008). Todas las vacas lecheras experimentan un entorno de bajos niveles de progesterona durante el período anovular postparto desde el parto hasta la primera ovulación. La tasa de doble ovulación posparto después de un estro natural fue mayor en las vacas anovulares en comparación con las vacas cíclicas (Lopez *et al.*, 2005a). Gumen *et al.* (2003) clasificó a las vacas en ovulares vs. anovulares y las sometió a una IA a tiempo fijo después de un protocolo Ovsynch (Tabla 2). La incidencia de la doble ovulación después del primer tratamiento con GnRH en un protocolo Ovsynch fue mayor en vacas anovulares que en vacas ovulares, sin embargo, la incidencia de la doble ovulación después del segundo tratamiento con GnRH del protocolo Ovsynch fue similar entre vacas ovulares y anovulares (Gumen *et al.*, 2003). Así, la primera ovulación postparto da una alta tasa de ovulaciones dobles debido a la falta de progesterona durante el crecimiento del folículo preovulatorio, y la primera exposición a la progesterona durante el período anovular postparto reduce la incidencia de la doble ovulación.

Tabla 2. Respuesta ovulatoria ante la GnRH en vacas ovulares y anovulares sometidas a un protocolo Ovsynch (adaptado de Gumen *et al.*, 2003).

Punto	Vacas ovulares % (n/n)	Vacas anovulares % (n/n)	P-valor
1º tratamiento con GnRH en Ovsynch			
Tasa global de ovulación	62 (72/117)	88 (29/33)	0,004
Tasa de ovulación doble	4 (3/72)	41 (12/29)	<0,001

2º tratamiento con GnRH en Ovsynch			
Tasa global de ovulación	97 (114/117)	94 (31/33)	0,323
Tasa de ovulación doble	12 (14/114)	13 (4/31)	0,926
Vacas con fase lútea corta	6 (7/114)	23 (7/31)	0,006

Los Quistes Ováricos. Se ha detectado una relación entre las vacas lecheras diagnosticadas con ovarios quísticos y la incidencia de la doble ovulación (Savio *et al.*, 1990; Lopez-Gatius *et al.*, 2005b; Labhsetwar *et al.*, 1963). Basado en un estudio poblacional de casi 9.000 vacas, Bendixen *et al.* (1989) informaron de una mayor incidencia de gestaciones gemelares en vacas diagnosticadas con quistes bien durante los primeros 40 d postparto o después del estro antes de la IA. Las probabilidades de una ovulación doble eran 3,3 veces mayor en las vacas identificadas con quistes ováricos y carentes de un cuerpo lúteo diagnosticadas mediante una ecografía que fueron sometidos a la IA a tiempo fijo tras un protocolo Ovsynch que en las vacas inseminadas después de una observación visual del celo o en vacas sin quistes sometidas a un protocolo Ovsynch (Silva del Rio *et al.*, 2009). Cuando se diagnostican vacas como quísticas en la ausencia de un cuerpo lúteo, se especula que la relación subyacente entre la condición de quística y las gestaciones gemelares es debido a la ausencia de progesterona en vez de a la presencia de una estructura quística (Silva del Rio *et al.*, 2009).

La Producción de Leche. Con la excepción de un estudio (Lopez-Gatius *et al.*, 2005b), se ha asociado positivamente la producción de leche cerca del momento de la ovulación con la incidencia de la doble ovulación en ganado lechero. Fricke y Wiltbank (1999) informaron que la incidencia de la doble ovulación tras un protocolo Ovsynch era mayor en las vacas con una producción de leche por encima de la media cerca del momento de la IA (40,7 kg/día) en comparación a las vacas con producción de leche por debajo de la media (20% vs. 7%, respectivamente), y esta relación era coherente con la tasa de paridad (1, 2 y 3+ lactancias). El nivel de la producción de leche durante los 14 d inmediatamente anteriores a un celo normal fue relacionado positivamente con la incidencia de la doble ovulación en vacas Holstein (López *et al.*, 2005a). La Figura 2 ilustra esta relación en la que las vacas que producían >40 kg/d en los 14 d anteriores al estro tenían una incidencia de ovulaciones dobles mucho mayor en comparación con las vacas que producían <40 kg/d, y más de la mitad de las vacas que producían >50 kg/d presentaban ovulaciones dobles. En comparación con las vacas con un solo folículo dominante, las vacas con folículos co-dominantes durante la primera onda folicular producían más leche, y tenían disminuidas las concentraciones de progesterona en el suero y aumentadas las concentraciones de FSH y LH durante el período de 24 horas anteriores a la hora prevista de la desviación del folículo dominante (López *et al.*, 2005).

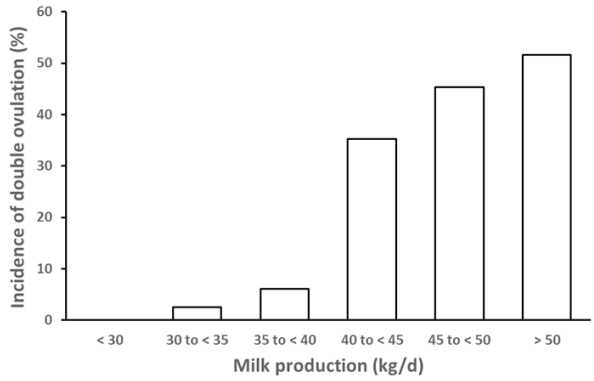


Figura 2. La incidencia de la doble ovulación en las vacas Holstein basada en la producción de leche durante los 14 d inmediatamente anteriores al estro natural (adaptado de Lopez *et al.*, 2005).

Fisiología de las Gestaciones Gemelares

Tomadas en su conjunto, se puede establecer ahora un vínculo fisiológico entre el aumento de la producción de leche, el aumento de la tasa de ovulaciones dobles y los gemelos dicigóticos, y la disminución de los niveles de progesterona circulantes en vacas lecheras en lactación. El estado estable de concentración de progesterona en circulación es un equilibrio entre la producción de progesterona por el cuerpo lúteo y el catabolismo de progesterona por el hígado (Wiltbank *et al.*, 2014). Como la producción de leche está altamente correlacionada (r = 0,88) con el consumo de alimento (Harrison *et al.*, 1990), aumenta el flujo sanguíneo hepático según aumenta la producción de leche y el consumo de alimento. El metabolismo hepático de la progesterona aumenta a la vez que aumenta la ingestión de alimento relacionada con la alta producción de leche, proporcionando así un mecanismo fisiológico para la disminución de las concentraciones de progesterona en circulación en las vacas lecheras de alta producción (Sangsritavong *et al.*, 2002). Por lo tanto, como la producción de leche ha aumentado a lo largo del tiempo en las vacas lecheras, la cantidad de progesterona circulante ha disminuido resultando en un incremento en la incidencia de la doble ovulación y de gemelos dicigóticos. Las bajas concentraciones de progesterona cerca del momento de la desviación del folículo dominante puede causar un retraso en el nadir del FSH y aumentar los pulsos de LH resultando en la selección de dos o más folículos dominantes durante una onda (Wiltbank *et al.*, 2014). Como el principal mecanismo para la gestación gemelar viene dado por la ovulación doble (Silva del Rio *et al.*, 2006), un aumento en la tasa de la ovulación doble sería la mejor manera de explicar el incremento de las gestaciones gemelares en vacas lecheras a lo largo del tiempo.

Identificación de Vacas con Gemelos

La Ecografía Transrectal. La gestión de las vacas esperando gemelos depende de la identificación precisa de las vacas que están esperando gemelos en las primeras etapas de la gestación. Como se predijo (Fricke, 2000), el uso de la ecografía transrectal por los veterinarios bovinos como una herramienta de gestión de la reproducción ha ido en aumento en los últimos 15 años. Las vacas esperando gemelos pueden ser identificados con precisión mediante una ecografía transrectal entre los 40 a 55 d después de la IA (Echternkamp y Gregory, 1991; Davis y Heibel, 1993; Dobson *et al.*, 1993). Gracias a los avances en la resolución de los escáneres de ultrasonido desde la publicación

de estos estudios, y dado que la mayoría de las gestaciones gemelares en las vacas lecheras son dicigóticos (Silva del Rio *et al.*, 2006), la presencia de dos o más CL en los ovarios en el momento de un diagnóstico temprano de la gestación realizado entre 32 y 39 d después de la IA puede servir para identificar a las vacas que están esperando gemelos (Fricke, 2000). Como aproximadamente un ~5% de todos los gemelos en las vacas Holstein son monocigóticos (Silva del Rio *et al.*, 2006), la presencia de gemelos en los primeros estadios de la gestación basado en la presencia de varios CL subestimaría ligeramente el número de gemelos. Por lo tanto, además de examinar ambos ovarios, se debe llevar a cabo un examen exhaustivo de toda la longitud de ambos cuernos uterinos durante una gestación para diagnosticar la presencia de gemelos utilizando la ecografía transrectal (Fricke, 2000).

Tabla 3. La viabilidad embrionaria, pérdidas de la gestación y la reducción embrionaria espontánea basada en ecografías transrectales entre un primer examen (FPE; 25 a 40 d después de IA) y un segundo examen de gestación (SPE; 48 a 82 d después de IA) en vacas Holstein (adaptado de Silva del Rio *et al.*, 2009).

	Tipo de gestación	
Punto	Singleton	Gemelos
Vacas con embriones en FPE, n	518	98
Vacas con embriones muertos en FPE, % (n)	3,7 (19)	-
Vacas con embriones vivos en FPE, n	499	98
Vacas con pérdida de gestación en SPE, % (n)	4,6 (23)	13,3 (13)
Vacas con gemelos sometidas a reducción en SPE, % (n)	-	11,2 (11)
Vacas que mantienen la gestación en SPE, % (n)	91,9 (476)	75,5 (74)

Pérdida de Gestación. La pérdida de la gestación dificulta la identificación precisa de las vacas que eventualmente pasan a parir gemelos porque las vacas esperando gemelos tienen una mayor incidencia de pérdida de gestación en comparación con las vacas que esperan una solo ternero. Aunque las vacas con ovulaciones dobles tendían a tener una mayor tasa de concepción en un primer diagnóstico de embarazo en comparación a las vacas con una sola ovulación (64% vs. 45%; Fricke y Wiltbank, 1999), la pérdida de gestación desde un primer diagnóstico de gestación hasta la confirmación de la gestación después de una ecografía transrectal fue tres veces mayor para las vacas diagnosticadas con gemelos en comparación a las vacas diagnosticadas con un solo embrión, resultando en una tasa de supervivencia de los embriones del 92% en las vacas diagnosticadas con un embrión frente al 76% para las vacas diagnosticadas con gemelos (Silva del Rio *et al.*, 2009; Tabla 3).

Tabla 4. Efecto de las gestaciones gemelares en la duración de la gestación y la supervivencia de terneros en vacas seleccionadas genéticamente para tener varias ovulaciones (adaptado de Echternkamp *et al.*, 2007).

				Supervivencia de terneros (%)	
Tipo de gestación	Nº de vacas	Duración de la gestación (d)	Nº de terneros	Nacimiento	Destete
1 izquierda	300	284.5 ± 0.2	711	97.3 ± 1.1	87.6 ± 1.5
1 derecha	360	284.2 ± 0.2	876	97.0 ± 1.0	88.3 ± 1.3
2 izquierda	96	277.2 ± 0.2	446	83.6 ± 1.4	70.7 ± 1.9
2 derecha	167	277.0 ± 0.1	838	82.7 ± 1.0	73.2 ± 1.4
2 Bilaterales	259	278.2 ± 0.1	1.158	94.0 ± 0.9	85.4 ± 1.2

La lateralidad de las gestaciones gemelares también afecta la pérdida de gestación, así como la reducción embrionaria espontánea. En un experimento, la pérdida de la gestación antes de 90 d de gestación fue mayor en las vacas con gemelos unilaterales (35%) en comparación con los gemelos bilaterales (8%) (Lopez-Gatius y Hunter, 2005). Curiosamente, la tasa de pérdida de gestación del 8% registrado entre gemelos bilaterales por Lopez-Gatius y Hunter (2005) es ligeramente inferior a la pérdida del 13% que se informó ocurre en vacas Holstein entre 27 y 31 d y entre 38 y 50 d de gestación basado en las ecografías transrectales en un resumen de 14 estudios (Santos *et al.*, 2004), y del 14% de pérdida en vacas con gemelos bilaterales reportados por Andreu-Vazquez *et al.* (2011). La lateralidad de gemelos también afecta la incidencia de distocias, así como la tasa de supervivencia de los terneros. En un experimento a largo plazo en el que las vacas eran seleccionadas genéticamente para tener varios ovulaciones, los gemelos dicigóticos bilaterales mostraron un aumento en la tasa de supervivencia y el peso corporal al nacer, una mayor duración de la gestación, y menos distocia que entre los gemelos dicigóticos unilaterales (Echternkamp *et al.*, 2007; Tabla 4). Las vacas que paren gemelos o trillizos, sin embargo, tuvieron una mayor incidencia de distocias que las vacas que paren un solo ternero (Echternkamp *et al.*, 2007).

Las Glicoproteínas Asociadas a la Preñez. Los niveles de PAG en circulación tanto en la sangre como en la leche están asociadas con la etapa de la gestación, la paridad, las pérdidas de la gestación y la producción de leche y pueden ser utilizadas para diagnosticar con precisión el estado de la gestación en las vacas lecheras (Ricci *et al.*, 2015). Las vacas que llevan dos fetos tenían mayores concentraciones de PAG en suero comparado con vacas que llevaban un solo feto (Lopez-Gatius *et al.*, 2007), y la diferencia en los niveles de PAG aumentaron según avanzaba la gestación de los 35 d a los 65 d después de la IA. En otro experimento, la diferencia de los niveles de PAG entre las vacas que tenían un feto en comparación con las que llevaban dos fetos era significativa entre los 27 d y 29 d después de la IA (Giordano *et al.*, 2012). No obstante, son varios los factores que pueden impedir la identificación con precisión de las vacas esperando gemelos en base a los niveles de PAG. En primer lugar, la pérdida de la gestación después de un primer diagnóstico de gestación mediante una ecografía transrectal en vacas diagnosticadas con gemelos fue tres veces mayor en comparación a las vacas diagnosticadas con un solo feto (Silva del Rio *et al.*, 2009). Además, algunas vacas diagnosticadas

con gemelos (6% a 11%) mediante un primer diagnóstico sufren reducciones embrionarias espontáneas y, al final, paren un solo ternero (Lopez-Gatius y Hunter, 2005; Silva del Rio *et al.*, 2009). Por lo tanto, algunas vacas diagnosticadas con gemelos en las primeras etapas de la gestación basada en los niveles de PAG (o cualquier otro método) van a parir un solo ternero y el resultado es una sobreestimación de la verdadera proporción de vacas que paren gemelos. En segundo lugar, debido a la relativamente larga vida media de los niveles PAG en circulación, los niveles PAG no disminuyeron a niveles similares a los de las vacas no embarazadas hasta 9,5 d después de la inducción de la pérdida de la gestación a los 39 d de gestación (Giordano *et al.*, 2012). Si se utilizaran los niveles de PAG como un indicador de diagnóstico para la identificación de las vacas esperando gemelos, se tendría que presentar el día exacto de la gestación junto con la muestra de sangre o de leche en el momento de la prueba. Incluso si se pudiera realizar esto con precisión, la mayoría de los test de PAG comerciales son cualitativas y no cuantitativas y no serían útiles para diferenciar los niveles de PAG y servir de un indicador de diagnóstico de gemelos.

Las Estrategias para la Gestión de Gestaciones Gemelares

Interrupción de la Gestación. Un método para reducir drásticamente o eliminar el la gestación gemelar en un hato lechero es identificar a las vacas que esperan gemelos y provocar una pérdida de gestación mediante la administración de un agente luteolítico como la prostaglandina $F_{2\alpha}$. En gestaciones de un solo feto, el tratamiento con una dosis de prostaglandina luteolítico $F_{2\alpha}$ a los 39 d de gestación disminuyó la progesterona en el plazo de 24 horas y causó la expulsión del embrión en todas las vacas en un plazo de 48 horas (Giordano *et al.*, 2012). Sin embargo, hay varios argumentos en contra de la terminación activa de todas las gestaciones gemelares identificados en las primeras etapas de la gestación. En primer lugar, se han estimado las pérdidas económicas sufridas debido a la pérdida de la gestación entre $46 (Ferguson y Galligan, 2011) y $300 (Galligan *et al.*, 2009). Como la incidencia de las gestaciones gemelares aumenta con el aumento de la producción de leche, las vacas diagnosticadas con gemelos suelen ser las de mayor producción en el hato y en caso del término de la gestación esto implicaría las mayores pérdidas económicas. En segundo lugar, aunque las estimaciones de heredabilidad y la repetibilidad de las gestaciones gemelares en las vacas lecheras son bajas (0,08 y 0,09, respectivamente; Van Vleck *et al.*, 1991; Gregory *et al.*, 1997), una gestación gemelar anterior es un factor de riesgo que puede llevar a posteriores gestaciones gemelares (Bendixen *et al.*, 1989; Nielen *et al.*, 1989). En tercer lugar, la pérdida de una gestación antes de 90 d en gestación para vacas con gemelos unilaterales no difirió entre las vacas del grupo de control y las vacas sometidas a la ruptura manual del amnios seguido de tratamiento de progesterona durante 21 d (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011), mientras que la pérdida de la gestación en vacas con gemelos bilaterales (Lopez-Gatius y Hunter, 2005) fue similar a la cifras registrados para Holsteins en general (Santos *et al.*, 2004). Por último, los gemelos dicigóticos bilaterales presentaban una mayor tasa de supervivencia y de peso corporal al nacer, una mayor duración de la gestación, y menos distocia que los gemelos dicigóticos unilaterales (Echternkamp *et al.*, 2007). Basándose en estos datos, una estrategia posible sería la de permitir que las vacas diagnosticadas con gemelos bilaterales continúen con la gestación, mientras que la reducción selectiva podría intentarse en vacas identificadas con gemelos unilateral. Como los nacimientos de gemelos y trillizos presentaron una mayor incidencia de distocias que los nacimientos de un solo ternero (Echternkamp *et al.*, 2007), las vacas gestantes diagnosticadas con gemelos bilaterales deberían recibir asistencia adicional en el momento del parto.

Reducción Selectiva. Se ha utilizado la reducción embrionaria selectiva durante las primeras etapas de la gestación para mitigar los efectos potencialmente peligrosas para la madre de los nacimientos múltiples tanto en mujeres (Iberico *et al.*, 2000) como en yeguas (Macpherson y Reimer, 2000). Se ha informado de un éxito razonable en yeguas cuando uno de los gemelos es aplastado manualmente cuando el procedimiento se realiza antes de los 30 d de gestación (Frazer, 2003). Dos experimentos controlados informaron de la eficacia del sistema de aplastamiento manual del amnios de uno de los embriones en un intento de mantener una gestación viable con un solo embrión (Lopez-Gatius, 2005; Andreu-Vazquez *et al.*, 2011).

En el primer experimento (Lopez-Gatius, 2005), 33 vacas con gemelos unilaterales fueron asignados aleatoriamente a uno de tres tratamientos: 1) control no tratado; 2) ruptura manual del amnios; y 3) ruptura manual del amnios más un tratamiento de progesterona (PRID con 1,55 g de progesterona) durante 28 d. Se intentó la reducción embrionaria entre los 35 a 40 d de gestación porque la mayoría de las vacas experimentan una reducción espontánea de gemelos en este momento (Lopez-Gatius y Hunter, 2005). La pérdida de la gestación en el grupo de control (es decir, la pérdida espontánea de ambos gemelos) fue del 27% (3/11), mientras que la pérdida de la gestación en las vacas sometidas a la ruptura manual del amnios fue del 100% (11/11). Curiosamente, la pérdida de la gestación en las vacas tratadas con progesterona durante 28 d después de la ruptura del amnios fue del 55% (6/11). Un embrión en una vaca tratada con progesterona después de la ruptura manual del amnios sobrevivió y la vaca parió gemelos, mientras que los restantes cinco vacas parieron un solo ternero cada una (Lopez-Gatius, 2005).

Tabla 5. Efectos de la lateralidad en gestaciones gemelares sobre las tasas de la pérdida de la gestación antes del día 90 en el grupo de control (sin manipulación) y entre las vacas sometidas a la reducción manual de gemelos seguida de un tratamiento de progesterona durante 21 d (adaptado de Andrieu-Vazquez *et al.*, 2011).

Punto	n	Tasa de pérdida antes de 90 d % (n/n)
Gestación gemelar unilateral	27	
Control	14	64 (9/14)
Reducción gemelar manual	13	54 (7/13)
Gestación gemelar bilateral	28	
Control	14	0 (0/14)
Reducción gemelar manual	14	29 (4/14)

Se llevó a cabo otro experimento de seguimiento para evaluar el efecto sobre el mantenimiento de la reducción embrionaria mediante la ruptura manual del amnios en vacas Holstein diagnosticados con gestaciones gemelares tanto unilaterales como bilaterales (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011; Tabla 5). A los 35 a 41 d de la gestación, 55 vacas con gemelos vivos detectados mediante ecografía transrectal fueron bloqueados por la lateralidad y asignados al azar a una reducción manual seguido de un tratamiento con progesterona (PRID con 1,55 g de progesterona) durante 21 d o sirvieron como controles sin tratar y no sufrieron ninguna manipulación. La pérdida de la gestación

antes de 90 d de gestación no varió entre los tratamientos y se produjo en el 32% de la vacas del grupo de control y en el 41% de las vacas después de la ruptura manual del amnios seguido de progesterona durante 21 d. Independiente del tratamiento, el tasa de la pérdida de la gestación fue 8.7 veces mayor en el caso de las gestaciones gemelares unilaterales que entre los bilaterales, aunque la pérdida de la gestación no varió entre las vacas del grupo de control con gemelos unilaterales y las vacas con gemelos unilaterales que sufrieron el proceso de reducción (62% vs 54%, respectivamente). Por el contrario, el 29% de las vacas con gestaciones gemelares bilaterales sometidas a la reducción gemelar perdieron sus gestaciones, mientras que no hubo pérdidas entre la vacas del grupo de control con gestaciones gemelares bilaterales. En general, el 44% (12/27) de las vacas sometidas a la ruptura manual del amnios siguieron adelante y parieron un ternero, mientras que el 54% (15/28) de las vacas del grupo de control parieron gemelos. Los autores concluyeron que la reducción embrionaria mediante la ruptura manual del amnios seguida por un tratamiento de progesterona no llevó a una tasa adicional de pérdida de gestación en el caso de las gestaciones gemelares unilaterales, mientras que llevó al aumento de la tasa de pérdida en el caso de gestaciones gemelares bilaterales (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011).

Gestión Nutricional durante el Período de Transición.La demanda de energía durante la gestación es de un 50% a 70% mayor para las vacas esperando gemelos en comparación con las que tienen un solo ternero (Koong *et al.*, 1982; Nishida *et al.*, 1997). Sin embargo, las vacas que esperan gemelos tienen un menor DMI en el preparto que las vacas que tienen un ternero (Van Saun, 1993). Además, las vacas que esperan gemelos tienen una duración de la gestación menor y, por lo tanto, tienen menos probabilidades de experimentar una completa exposición de tres semanas a una dieta de encierro durante el período seco (Nielen *et al.*, 1989). Por lo tanto, las estrategias de gestión de la alimentación pueden ofrecer una oportunidad para mitigar los efectos negativos de la gestación gemelar en el ganado lechero (Bell y Roberts, 2007).

Llevamos a cabo un experimento para evaluar los efectos de la alimentación en la época seca en el estado metabólico y el rendimiento de la lactancia en vacas Holstein gestantes con un ternero o con gemelos (Silva del Rio *et al.*, 2010). La gestión de la alimentación en el periodo seco consistió en una dieta de preparto de energía moderada (preparto de 8 semanas) comparado con una dieta de vaca seca de entre 60 a 21 d antes de la fecha de parto prevista, seguida por una dieta de preparto (preparto de 3 semanas). Los tratamientos fueron dispuestos en un diseño factorial 2 x 2 con un diseño de bloques aleatorios con 47 vacas Holstein. Nuestra hipótesis era que el aumento de la duración de una dieta de preparto durante el periodo seco mejoraría el estado metabólico y el rendimiento de la lactancia en la vacas con gemelos, pero no en las vacas que llevaban un solo embrión. Contrario a nuestra hipótesis, la respuesta metabólica a la estrategia de alimentación en el período seco se mostró independiente del estado gemelar (Silva del Rio *et al.*, 2010), lo cual indica que la alteración de la gestión nutricional para aumentar la energía durante el período seco no mejoró el estado metabólico de vacas esperando gemelos. Curiosamente, hubo un efecto de la dieta según la cual las vacas alimentadas con una dieta de energía moderada durante todo el período seco consiguieron una mayor producción de leche comparado con las vacas alimentadas según los requerimientos de energía del NRC (2001) para todo el periodo seco (es decir, una dieta de vaca seca seguida de una dieta de preparto de 3 semanas). Sobre la base de nuestros resultados (Silva del Rio *et al.*, 2010), la diferente gestión de las vacas esperando gemelos durante el período seco no mejoró el estado metabólico de la vacas esperando gemelos.

Manipulación Hormonal antes de la IA para Reducir la Ovulación Doble. Los ganaderos lácteos han adoptado protocolos de sincronización hormonal para su uso en los programas de gestión de la reproducción de las vacas lecheras (Carievello *et al.*, 2006), y el uso de protocolos de sincronización para la inseminación de vacas lecheras ha aumentado con el transcurso del tiempo (Norman *et al.*, 2009). Las gestaciones gemelares también han aumentado entre las mujeres a lo largo del tiempo, y este aumento ha sido atribuido al aumento en el uso de hormonas exógenas y a la fertilización in vitro durante los tratamientos de fertilidad asistida (Imaizumi, 2003). Aunque la fisiología endocrina difiere considerablemente entre estas situaciones, los ganaderos suelen asociar el aumento de la utilización de protocolos de sincronización hormonal con una mayor incidencia de gestaciones gemelares. Una estrategia común para aplicar a las vacas para su inseminación por primera vez en las granjas es el uso del protocolo Presynch Ovsynch y combinar la IA a la detección de estro después de la parte Presynch del protocolo, sometiendo a las vacas a las que no se les detecta en estro a la IA a tiempo fijo después de un protocolo Ovsynch (Fricke *et al.*, 2014). Bajo este sistema de gestión, las vacas que reciben una IA a tiempo fijo tras un protocolo Ovsynch difieren de las vacas inseminadas al detectar el celo en que probablemente son las vacas que más producen que expresan el estro durante el periodo de tiempo más corto (López *et al.*, 2004) y de las vacas anovulares que tienen bajos niveles de progesterona al inicio del protocolo Ovsynch. Ambas condiciones son factores de riesgo para la doble ovulación y la gestación gemelar, tal como se ha visto anteriormente. Contrariamente a la idea de que los protocolos de sincronización hormonal aumentan las gestaciones gemelares, la manipulación hormonal de las vacas para incrementar la progesterona durante el desarrollo del folículo ovulatorio resultó en una disminución de la incidencia de la doble ovulación (Stevenson *et al.*, 2007; Cerri *et al.*, 2011). Un protocolo de Doble Ovsynch (Souza *et al.*, 2008; Herlihy *et al.*, 2012) efectivamente presincroniza a las vacas para maximizar la progesterona durante el crecimiento del folículo ovulatorio (Wiltbank *et al.*, 2014) y debería disminuir la tasa de la ovulación doble y de las subsiguientes gestaciones gemelares dicigóticos.

Tabla 6. Efectos de la progesterona durante el crecimiento del folículo preovulatorio sobre la incidencia de la doble ovulación en vacas lecheras Holstein (adaptado de Cunha *et al.*, 2008).

Tasa de ovulación doble	Progesterona baja % (n/n)	Progesterona alta % (n/n)	P-valor
Total	23 (54/231)	12 (32/261)	<0,001
Vacas primíparas	20 (21/105)	10 (11/115)	0,022
Vacas multíparas	26 (33/126)	14 (21/146)	0,011

Para probar los efectos de la progesterona durante el crecimiento del folículo ovulatorio en la incidencia de la ovulación doble, las vacas Holstein fueron asignados aleatoriamente a dos protocolos de presincronización que manipulaba a las vacas para que tuvieran niveles de progesterona altos o bajos durante un protocolo Ovsynch (Cunha *et al.*, 2008; Tabla 6). Las vacas sometidas al tratamiento con altos niveles de progesterona fueron sometidos a un protocolo Doble Ovsynch (Souza *et al.*, 2008) y presentaban mayores niveles de progesterona en

el primer tratamiento de GnRH del protocolo Ovsynch (1,8 vs. 0,3 ng/mL, respectivamente) y en el tratamiento $PGF_{2\alpha}$ del protocolo Ovsynch (4,4 vs. 2,2 ng/mL) en comparación a las vacas sometidas al tratamiento con bajos niveles de progesterona (Cunha *et al.*, 2008). La respuesta ovulatoria al último tratamiento de GnRH del protocolo Ovsynch fue similar en los dos tratamientos; sin embargo, las vacas tratadas con bajos niveles de progesterona tuvieron mayor número de ovulaciones dobles en comparación a las vacas tratadas con altos niveles de progesterona (Cunha *et al.*, 2008). Además, la fertilidad fue mayor (48% vs. 33%) y la pérdida de la gestación fue menor (4% vs. 16%) en las vacas sometidas al tratamiento de alto nivel de progesterona comparado con los del tratamiento con bajos niveles de progesterona (Cunha *et al.*, 2008). Por lo tanto, el aumento de progesterona durante el crecimiento del folículo ovulatorio disminuyó drásticamente la tasa de la ovulación doble mientras aumentaba la fertilidad y disminuía la pérdida de las gestaciones posteriores. El uso de un protocolo de sincronización hormonal como el doble Ovsynch, por lo tanto, disminuye la tasa de ovulación doble disminuyendo así la tasa de gestaciones gemelares dicigóticos en vacas lecheras de alta producción. La manipulación hormonal puede ser la mejor estrategia para disminuir la gestación gemelar en vacas lecheras mediante la disminución de la incidencia de la ovulación doble, disminuyendo así la concepción de gemelos dicigóticos.

CONCLUSIÓN

Basándose en los datos de esta revisión, ahora podemos formular un enfoque de dos vías para reducir el impacto negativo de las gestaciones gemelares en las vacas lecheras. En primer lugar, la incidencia de la doble ovulación y de gemelos dicigóticos puede disminuirse en las vacas Holstein de alta producción manipulando la función ovárica con hormonas para aumentar la progesterona durante el crecimiento del folículo preovulatorio antes de la IA a tiempo fijo. La mejor estrategia para lograrlo es someter a las vacas a un primera IA a tiempo fijo tras un protocolo Doble Ovsynch. En segundo lugar, como los gemelos dicigóticos bilaterales tienen una mayor tasa de supervivencia y de peso corporal al nacer, una mayor duración de la gestación, y menos distocia que los gemelos dicigóticos unilaterales, las vacas detectadas con gemelos bilaterales durante la gestación temprana deben continuar con la gestación y recibir una ayuda adicional en el momento del parto. Como la reducción selectiva de gemelos unilaterales presentó una pérdida de gestación similar a la que se vio entre la vacas de control con gemelos unilaterales, se puede intentar la reducción selectiva en las vacas diagnosticadas con gemelos unilaterales aunque teniendo en cuenta que las pérdida de gestación global en el caso de gemelos unilaterales superó el 50%. En general, esta estrategia debería disminuir la incidencia de gestaciones gemelares en un hato lechero y minimizar los impactos negativos de la gestación gemelar en las vacas que conciben gemelos.

BIBLIOGRAFÍA

- Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, Ganau S, Fricke PM, López-Gatius F: Effects of twinning on the subsequent reproductive performance and productive lifespan of high-producing dairy cows. Theirogenology 78:2061-2070, 2012.
- Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, López-Béjar M, de Sousa NM, Beckers JF, López-Gatius F: Clinical implications of induced twin reduction in dairy cattle. *Theriogenology* 76:512-521, 2011.
- Bell MJ, Roberts DJ: Effect of twinning on the feed intake, performance and health of dairy cows. *Livest Prod Sci* 107:274-281, 2007.
- Bendixen PH, Oltenacu PA, Andersson L: Case-referent study of cystic ovaries as a risk indicator for twin calvings in dairy cows. *Theriogenology* 31:1059-66, 1989.
- Bonnier G: Studies on monozygotic cattle twins. II. Frequency of monozygotic twins. *Acta Agr Suecana* 1:147-51, 1946.
- Cerri RLA, Chebel RC, Rivera F, Narciso CD, Oliveira RA, Thatcher WW, Santos JEP: Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *J Dairy Sci* 94:3342-3351, 2011.
- Cunha AP, Guenther JN, Maroney MJ, Giordano JO, Nascimento AB, Bas S, Ayers H, Wiltbank MC: Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. J Dairy Sci 91(E-Suppl 1):246 (abstr), 2008.
- Davis ME, Haibel GK: Use of real-time ultrasound to identify multiple fetuses in beef cattle. *Theriogenology* 40:373-382, 1993.
- Dobson H. Rowan TG, Kippax IS, Humblot P: Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. *Theriogenology* 40:411-425, 1993.
- Echternkamp SE, Gregory KE: Identification of twin pregnancies in cattle by ultrasonography. *J Anim Sci* 69(Suppl.1):220. (Abstr.), 1991.
- Echternkamp SE, Thallman RM, Cushman RA, Allan MF, Gregory KE: Increased calf production in cattle selected for twin ovulations. *J Anim Sci* 85:3239-3248, 2007.
- Ferguson JD, Galligan DT: The value of pregnancy diagnosis–A revisit to an old art. *Theriogenology Annu Conf Symp*, Milwaukee, WI. Society of Theriogenology, Montgomery, AL, 2011.
- Frazer GS: Twins. In: Robinson NE, editor. Current Therapy in Equine Medicine, 5th edition. Elsevier Science pp. 245-248, 2003.
- Fricke PM: Scanning the future – ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. J Dairy Sci 85:1918-1926, 2002.
- Fricke PM: Review: Twinning in dairy cattle. Prof Anim Sci 17:61-67, 2001.
- Fricke PM, Giordano JO, Valenza A, Lopes Jr. G, Amundson MC, Carvalho PD: Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an activity monitoring system. *J Dairy Sci* 97:2771-2781, 2014.
- Fricke PM, Wiltbank MC: Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. Theriogenology 52:1133-1143, 1999.
- Galligan DT, Ferguson J, Munson R, Remsburg D, Skidmore A: Economic concepts regarding early pregnancy testing. Pages 48-53 In: Proc Am Assoc Bovine Pract, Omaha, NE. Am Assoc Bovine Pract, Auburn, AL, 2009.
- Giordano JO, Guenther JN, Lopes Jr G, Fricke PM: 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, 2012.

- Gregory KE, Bennett GL, Van Vleck LD, Echternkamp SE, Cundiff LV: Genetic and environmental parameters for ovulation rate, twinning rate, and weight traits in a cattle population selected for twinning. J Anim Sci 75:1213-1222, 1997.
- Gümen A, Guenther JN, Wiltbank MC: Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. J Dairy Sci 86:3184-3194, 2003.
- Hayashi KG, Matsui M, Shimizu T, Sudo N, Sato A, Shirasuna K, Tetsuka M, Kida K, Schams D, Miyamoto A: The absence of corpus luteum formation alters the endocrine profile and affects follicular development during the first follicular wave in cattle. *Reproduction* 136:787-797, 2008.
- Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE: Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 73:2749-2758, 1990.
- Herlihy MM, Giordano JO, Souza AH, Ayres H, Ferriera RM, Keskin A, Nascimento AB, Guenther JN, Gaska JM, Kacuba SJ, Crowe MA, Butler ST, Wiltbank MC: Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. J Dairy Sci 95:7003-7014, 2012.
- Iberico G, Mavarro J, Blasco L, Simon C, Pellicer A, Remohi J: Embryo reduction of multifetal pregnancies following assisted reproduction treatment: A modification of the transvaginal ultrasound-guided technique. Hum Reprod 15:2228-2233, 2000.
- Imaizumi Y: A comparative study of zygotic twinning and triplet rates in eight countries. J Biosoc Sci 35:287-302, 2003.
- Johanson JM, Bergert PJ, Kirkpatrick BW, Dentine MR: Twinning rates for North American Holstein sires. J Dairy Sci 84:2081-2088, 2001.
- Kinesl ML, Marsh WE, Ruegg PL, Etherington WG: Risk factors for twinning in dairy cows. J Dairy Sci 81:989-993, 1998.
- Koong LJ, Anderson GB, Garrett WN: Maternal energy status of beef cattle during single and twin pregnancy. *J Anim Sci* 54:480-484, 1982.
- Labhsetwar AP, Tyler WJ, Casida LE: Analysis of variation in some factors affecting multiple ovulations in Holstein cattle. *J Dairy Sci* 46:840-8422, 1963.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC: Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 88:2783-93, 2005.
- Lopez H, Sartori R, Wiltbank MC: Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle. Biol Reprod 72:788-795, 2005.
- Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC: Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 81:209-223, 2004.
- López-Gatius F: The effect on pregnancy rate of progesterone administration after manual reduction of twin embryos in dairy cattle. J Vet Med Assoc 52:199-201, 2005.
- López-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yaniz J, Ayad A, de Sousz NM, Beckers JF: Milk pfoduction correlated negatively with plasma levels of pregnancy-associated blycoprotein (PAG) during the early fetal period in high producing dairy cows with live fetuses. *Dom Anim Endocrinol* 32:29-42, 2007.
- López-Gatius F, Hunter RHF: Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle. Theriogenology 63:118-125, 2005.
- Lopez-Gatius F, Lopez-Bejar M, Fenech M, Hunter RH: Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology* 63:1298-1307, 2005.
- Macpherson ML, Reimer JM: Twin reduction in the mare: Current options. Anim Reprod Sci 60-61:233-244, 2000.
- Nielen M, Schukken YH, Scholl DT, Wilbrink HJ, Brand A: Twinning in dairy cattle: A study of risk factors and effects. Theriogenology 32:845-862, 1989.
- Nishida T, Kurihara M, Terada F, Shibata M: Energy requirements of pregnant Holstein dairy cows carrying single or twin Japanese black fetuses in late pregnancy. Anim Sci Technol 68:572-578, 1997.
- Norman D, Wright JR, Hubbard SM, Miller RH, Hutchison JL: Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. *J Dairy Sci* 92:3517-3528, 2009.
- NRC: Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. *Natl Acad Press*, Washington, DC, 2001.
- Ricci A, Carvalho PD, Amundson MC, Fourdraine RH, Vincenti L, Fricke PM: Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. J Dairy Sci 98:2502-2514, 2015.
- Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC: High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17β in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:2831-2842, 2002.
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN: The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 82-83:513-535, 2004.
- Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF: Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil* 88:569-579, 1990.
- Silva del Río N, Colloton JD, Fricke PM: Factors affecting pregnancy loss for single and twin pregnancies in a high-producing dairy herd. Theriogenology 71:1462-1471, 2009.
- Silva del Río N, Fricke PM, Grummer RR: Effects of twin pregnancy and dry period feeding strategy on milk production, energy balance, and metabolic profiles in dairy cows. J Anim Sci 88:1048-1060, 2010.
- Silva del Río N, Kirkpatrick BW, Fricke PM: Observed frequency of monozygotic twinning in Holstein dairy cattle. Theriogenology 66:1292-1299, 2006
- Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang YM, Fricke PM: An observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. J Dairy Sci

90:1255-1264, 2007.

- Souza AH, Ayers H, Ferreira RM, Wiltbank MC: A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70:208-215, 2008.
- Stevenson JS, Portaluppi MA, Tenhouse DE: Factors influencing upfront single- and multiple-ovulation incidence, progesterone, and luteolysis before a timed insemination resynchronization protocol. *J Dairy Sci* 90:5542-5551, 2007.
- Van Saun RJ: Effects of undegradable protein fed prepartum on subsequent lactation, reproduction, and health in Holstein dairy cattle. PhD Thesis. Cornell Univ., Ithaca, NY, 1993.
- Van Vleck LD, Gregory KE, Echternkamp SE: Ovulation rate and twinning rate in cattle: Heritabilities and genetic correlation. *J Anim Sci* 69:3213-3219, 1991.
- Weinberg W. Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Mehrlingsgeburten beim Menschen Pflügers. *Arch Ges Physiol* 88:346-430, 1902.
- Wiltbank MC, Fricke PM, Sangritasvong S, Sartori R, Ginther OJ: Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J Dairy Sci* 83:2998-3007, 2000.
- Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Disking MG: Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 8:70-81, 2014.

ENGLISH VERSION

Management of Twinning in Dairy Cows

Paul M. Fricke, Ph.D., Professor of Dairy Science

Department of Dairy Science, University of Wisconsin - Madison

ABSTRACT

Twinning in Holstein dairy cows has increased over time concurrent with increased milk production. More than 95% of twins in Holsteins arise due to double ovulations resulting in dizygotic twins. It is now clear that low progesterone during growth of a preovulatory follicle increases the incidence of double ovulation. Increased hepatic metabolism of progesterone as a result of the increased feed intake associated with high milk production provides a physiological mechanism for decreased progesterone levels in high-producing dairy cows resulting in an increase in dizygotic twinning. Twinning will likely continue to increase with milk production over time, so strategies to effectively manage twinning in dairy cows need to be identified and implemented. Cows carrying unilateral twins had greater pregnancy loss compared to cows carrying bilateral twins in which losses were similar to Holsteins overall, and bilateral twins had increased survival and body weight at birth, a longer gestation length, and less dystocia than unilateral twins. Selective embryo reduction by manual rupture of the amnion followed by progesterone treatment did not increase the risk of pregnancy loss for cows with unilateral twins but increased the risk of loss for cows with bilateral twins. Hormonal synchronization protocols that increase progesterone during development of the preovulatory follicle increase conception rate, decrease pregnancy loss, and decrease double ovulation rate thereby decreasing twinning in high-producing dairy cows. Twinning can be decreased in high-producing dairy cows using a two-pronged approach. First, the incidence of double ovulation and dizygotic twinning can be decreased in high-producing Holstein cows by manipulating ovarian function to increase progesterone during growth of the preovulatory follicle before timed AI. Second, cows identified with bilateral twins using transrectal ultrasonography early during gestation should be allowed to continue gestation with extra assistance provided at calving, whereas selective reduction can be attempted for cows diagnosed with unilateral twins.

INTRODUCTION

In 2001, I published a review of the scientific literature on the topic of twinning in dairy cattle (Fricke, 2001). My purpose was to overview the causative factors associated with twinning and to identify management strategies based on data from controlled experiments that might mitigate the negative effects of twinning. At the time of this review, epidemiologic data supported that the incidence of twinning in Holstein dairy cows in the U.S. had increased over time (Kinsel *et al.*, 1998). From an economic perspective in the U.S., lost revenue due to twinning was estimated to be $55 million per year (Johanson *et al.*, 2001). If twinning has continued to increase over time, the negative impacts of twinning on calves born as twins, cows calving twins, and the resulting decrease in dairy farm profitability (Fricke *et al.*, 2001) have only gotten worse and will continue to be a reproductive problem for dairy cows in the future.

Controlled experiments testing strategies to mitigate the negative impacts of twinning in dairy cows were lacking 15 years ago, and I concluded my review by stating that dairy farmers and their consultants were ill prepared to make sound management decisions to mitigate the negative effects of twinning on their operations because of a lack of scientific data on management strategies proven to mitigate the negative effects of twinning (Fricke, 2001). During the past 15 years, many experiments have been published in the area of twinning in dairy cattle that have filled many of the gaps in our knowledge. The purpose of this review is to update and expand upon my initial review on twinning in dairy cattle and determine if we now can make research-based management recommendations to mitigate or even prevent the negative impacts of twinning in dairy cows.

Twinning Trend across Time

Based on an epidemiologic study of twinning published in 1998 (Kinsel *et al.*, 1998), twinning in the U.S. increased over a 10-year period from 1983 to 1993. The authors implicated the concurrent increase in milk production during this period as the single most important factor associated with the increase in twinning (Kinsel *et al.*, 1998). To determine if this trend for an increase in twinning has continued over time, we analyzed and published an observational analysis of twin births in Holstein cows in the Upper Midwest region of the U.S. from 1996 to 2004 (Silva del Rio *et al.*, 2007). A data set of Holstein calving records from January 1996 to September 2004 comprising 4,103 herds with 2,304,278 calving events representing 1,164,233 cows and 96,069 twin births was extracted from Minnesota DHIA archives to assess reported twinning trends across time. Overall, the reported twinning rate averaged 4.2%, and twinning increased with parity (1.2% for nulliparous vs. 5.8% for multiparous cows) and with time (3.4% in 1996 to 4.8% in 2004). Figure 1 shows the trend for increased twinning across time in the U.S. Holstein population from 1983 to 1993 based on data from Kinsel *et al.* (1998) and from 1996 to 2004 based on data from Silva del Rio *et al.* (2007). Clearly, twinning in Holsteins has consistently increased from 1983 to 2004 (Figure 1). Based on this long-term trend, we may expect twinning in Holsteins to continue to increase.

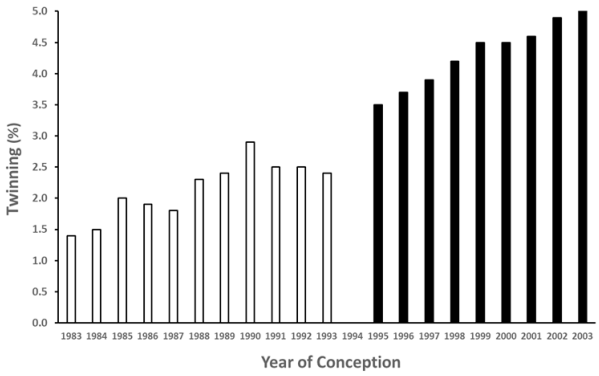


Figure 1. Trend in reported twinning rate in Holstein cows in the U.S. from 1983 to 2003. Data includes nonlactating and lactating Holsteins. Open bars: data adapted from Kinsel *et al.*, 1998; Solid bars: data adapted from Silva del Rio *et al.*, 2007.

A novel observation based on our analysis was a significant parity by time interaction on twinning. For primiparous and multiparous cows, the twinning rate increased from 4.0% and 5.2% during the first 12 months of the study to 5.9% and 7.3% during the last 12 months of the study, whereas the twinning rate for nonlactating heifers increased from only 1.1% to 1.3% during this same time period (Silva del Rio *et al.*, 2007). Although a causal relationship cannot be established based on our epidemiologic approach, the greater increase in twinning across time for lactating cows compared to nonlactating heifers further implicates the concurrent increase in milk production as a causative factor associated with twinning as speculated by Kinsel *et al.* (1998).

Mechanism of Twinning

Dairy cows are a monotocous species meaning that they normally produce only one calf per pregnancy. Occasionally, however, the reproductive process in dairy cows results in twins or even triplets. Twinning can be classified into two types: monozygotic and dizygotic. Monozygotic twins (i.e., identical twins), result from the *in vivo* cleavage of one fertilized oocyte during early embryonic development. By contrast, dizygotic twins (i.e., fraternal twins), result from fertilization of oocytes from two follicles that ovulate during the same estrous cycle. Mathematical models, including Weinberg's Differential Method (Weinberg, 1902) and Bonnier's Equation (Bonnier, 1946), have been used to estimate the proportion of monozygotic twinning in dairy cows. Because monozygotic twins are always of the same sex, these equations are based on the skewing of the sex ratio away from mixed-sex twins and toward same-sex twins. These mathematical models, however, tend to overestimate the observed proportion of monozygotic twinning in dairy cows (Silva del Rio *et al.*, 2006). We conducted an observational experiment to determine the incidence of monozygotic twins in Holstein cows and reported a monozygotic twinning frequency of 7.5% of same-sex twins and 4.7% of all twins (Silva del Rio *et al.*, 2006; Table 1). Thus, monozygotic twinning occurs infrequently in Holstein cows, and the primary mechanism for twinning in dairy cows is double ovulations resulting in dizygotic twins (Table 1).

Table 1. Frequency of dizygotic and monozygotic twinning in a population of twin Holstein calves determined empirically based on polymorphic microsatellite DNA markers (adapted from Silva del Rio *et al.*, 2006).

		Classification	
Classification	n	Dizygotic, % (n)	Monozygotic, % (n)
Same-sex twins	67	92.5 (62)	7.5 (5)
Opposite-sex twins	40	100.0 (40)	-
All twins	107	95.3 (102)	4.7 (5)

Endocrinology of Twinning

Progesterone. Progesterone is the most biologically active progestagen in cattle and is primarily produced and secreted by the corpus luteum during the estrous cycle and the placenta during pregnancy. It is now clear that low progesterone during growth of an ovulatory follicle is associated an increased incidence of double ovulation (Wiltbank *et al.*, 2000). Cows in which the preovulatory follicle develops in the absence of progesterone from a corpus luteum have a greater incidence of co-dominant follicles resulting in double ovulation (Hayashi *et al.*, 2008). All dairy cows experience a low progesterone environment during the postpartum anovular period from calving to first ovulation. Postpartum double ovulation rate after a natural estrus was greater for anovular compared to cycling cows (Lopez *et al.*, 2005a). Gumen *et al.* (2003) classified cows as ovular vs. anovular and submitted to a timed AI after an Ovsynch protocol (Table 2). Incidence of double ovulation to the first GnRH treatment of the Ovsynch protocol was greater for anovular compared to ovular cows, however, incidence of double ovulation to the second GnRH treatment of the Ovsynch protocol was similar between ovular and anovular cows (Gumen *et al.*, 2003). Thus, the first postpartum ovulation results in a high double ovulation rate due to the lack of progesterone during growth of the preovulatory follicle, and the first exposure to progesterone during the postpartum anovular period reduces the incidence of double ovulation.

Table 2. Ovulatory responses to GnRH of ovular and anovular cows submitted to an Ovsynch protocol (adapted from Gumen *et al.*, 2003).

Item	Ovular cows % (n/n)	Anovular cows % (n/n)	P-value
1st GnRH treatment of Ovsynch			
Overall ovulation rate	62 (72/117)	88 (29/33)	0.004
Double ovulation rate	4 (3/72)	41 (12/29)	<0.001
2nd GnRH treatment of Ovsynch			
Overall ovulation rate	97 (114/117)	94 (31/33)	0.323
Double ovulation rate	12 (14/114)	13 (4/31)	0.926
Cows with a short luteal phase	6 (7/114)	23 (7/31)	0.006

Ovarian Cysts. An association between dairy cows diagnosed with cystic ovaries and the incidence of double ovulation has been reported (Savio *et al.*, 1990; Lopez-Gatius *et al.*, 2005b; Labhsetwar *et al*, 1963). Based on a study population of nearly 9,000 cows, Bendixen *et al.* (1989) reported a greater incidence of twinning for cows diagnosed with cysts either during the first 40 d postpartum or after the estrus before AI. The odds of double ovulation were 3.3 times greater for cows identified with ovarian cysts and lacking a corpus luteum based on ultrasonography

that were submitted to timed AI after an Ovsynch protocol than for cows inseminated after visual observation of estrus or non-cystic cows submitted to an Ovsynch protocol (Silva del Rio *et al.*, 2009). When cows were diagnosed cystic in the absence of a corpus luteum, the underlying association between the cystic condition and twinning was speculated to be due to the absence of progesterone rather than the presence of a cystic structure (Silva del Rio *et al.*, 2009).

Milk Production. With the exception of one study (Lopez-Gatius *et al.*, 2005b), milk production near the time of ovulation has been positively associated with the incidence of double ovulation in dairy cattle. Fricke and Wiltbank (1999) reported that the incidence of double ovulation after an Ovsynch protocol was greater for cows with above average milk production near the time of AI (40.7 kg/day) compared to cows with below average milk production (20% vs. 7%, respectively), and this relationship was consistent within parity (1, 2 and 3+ lactations). Level of milk production during the 14 d immediately preceding a natural estrus was positively associated with the incidence of double ovulation in Holstein cows (Lopez *et al.*, 2005a). Figure 2 illustrates this relationship in which cows producing >40 kg/d in the 14 d preceding estrus had a dramatically increased incidence of double ovulation compared to cows producing <40 kg/d, with more than half of cows producing >50 kg/d having double ovulations. Compared to cows with a single dominant follicle, cows with co-dominant follicles during the first follicular wave produced more milk, and had decreased serum progesterone concentrations and increased FSH and LH concentrations during the 24 h period before the expected time of deviation of the dominant follicle (Lopez *et al.*, 2005).

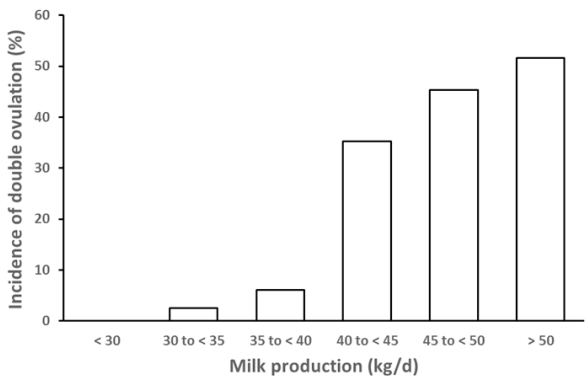


Figure 2. Incidence of double ovulation for Holstein cows based on milk production during the 14 d immediately preceding natural estrus (adapted from Lopez *et al.*, 2005).

Physiology of Twinning

Taken together, a physiological link can now be made between increasing milk production, the increased rate of double ovulation and dizygotic twinning, and decreased circulating progesterone levels in lactating dairy cows. Steady state progesterone concentration in circulation is a balance between progesterone production by the corpus luteum and progesterone catabolism by the liver (Wiltbank *et al.*, 2014). Because milk production is highly correlated (r = 0.88) with feed intake (Harrison *et al.*, 1990), hepatic blood flow increases as milk production and feed intake increases. Hepatic metabolism of progesterone increases as feed intake associated with high milk production increases thereby providing a physiological mechanism for decreased circulating progesterone concentrations in high-producing dairy cows (Sangsritavong *et al.*, 2002). Thus, as milk production has increased over time in dairy cows, circulating progesterone has decreased resulting in an increase in the incidence of double ovulation and dizygotic twinning. Decreased progesterone concentrations near the time of deviation of the dominant follicle may cause a delay in the FSH nadir and increase LH pulses resulting in selection of two or more dominant follicles during a wave (Wiltbank *et al.*, 2014). Because the primary mechanism for twinning is via double ovulation (Silva del Rio *et al.*, 2006), an increase in the double ovulation rate would best explain the increase in twinning in dairy cows over time.

Identification of Cows Carrying Twins

Transrectal Ultrasonography. Management of cows carrying twins depends on accurate identification of cows carrying twins early during gestation. As predicted (Fricke, 2000), the adoption of transrectal ultrasonography by bovine practitioners as a reproductive management tool has increased over the past 15 years. Cows carrying twins can be accurately identified using transrectal ultrasonography by 40 to 55 d after AI (Echternkamp and Gregory, 1991; Davis and Heibel, 1993; Dobson *et al.*, 1993). Because of the advances in the resolution of ultrasound scanners since publication of these studies, and because the majority of twinning in dairy cows is dizygotic (Silva del Rio *et al.*, 2006), the presence of two or more CL on the ovaries at the time of an early pregnancy diagnosis conducted 32 to 39 d after AI can be used to identify cows carrying twins (Fricke, 2000). Because ~5% of all twins in Holsteins are monozygotic (Silva del Rio *et al.*, 2006), the presence of twins early during gestation based on the presence of multiple CL would slightly underestimate the number of twins. Thus, in addition to examining both ovaries, a thorough examination of the entire length of both uterine horns during a pregnancy examination should be performed to accurately diagnose twins using transrectal ultrasonography (Fricke, 2000).

Table 3. Embryo viability, pregnancy loss, and spontaneous embryo reduction based on transrectal ultrasonography between a first pregnancy examination (FPE; 25 to 40 d after AI) to a second pregnancy examination (SPE; 48 to 82 d after AI) in Holstein cows (adapted from Silva del Rio *et al.*, 2009).

	Pregnancy type	
Item	Singleton	Twin
Cows with embryos at FPE, n	518	98
Cows with dead embryos at FPE, % (n)	3.7 (19)	-
Cows with live embryos at FPE, n	499	98
Cows undergoing pregnancy loss by SPE, % (n)	4.6 (23)	13.3 (13)
Cows with twins undergoing reduction by SPE, % (n)	-	11.2 (11)
Cows maintaining pregnancy by SPE, % (n)	91.9 (476)	75.5 (74)

Pregnancy Loss. Pregnancy loss confounds accurate identification of cows that eventually go on to calve twins because cows carrying twins have a greater incidence of pregnancy loss compared to cows carrying singletons. Although cows with double ovulations tended to have a greater conception rate at a first pregnancy diagnosis compared to cows with single ovulations (64% vs. 45%; Fricke and Wiltbank, 1999), pregnancy loss from an initial pregnancy diagnosis to a pregnancy reconfirmation based on transrectal ultrasonography was three-

fold greater for cows diagnosed with twins compared to cows diagnosed with singletons resulting in an embryo survival rate of 92% for cows diagnosed with singletons compared to 76% for cows diagnosed with twins (Silva del Rio *et al.*, 2009; Table 3).

Table 4. Effect of twinning on gestation length and calf survival in cows genetically selected for multiple ovulations (adapted from Echternkamp *et al.*, 2007).

				Calf survival (%)	
Pregnancy type	No. of cows	Gestation length (d)	No. of calves	Birth	Weaning
1 Left	300	284.5 ± 0.2	711	97.3 ± 1.1	87.6 ± 1.5
1 Right	360	284.2 ± 0.2	876	97.0 ± 1.0	88.3 ± 1.3
2 Left	96	277.2 ± 0.2	446	83.6 ± 1.4	70.7 ± 1.9
2 Right	167	277.0 ± 0.1	838	82.7 ± 1.0	73.2 ± 1.4
2 Bilateral	259	278.2 ± 0.1	1,158	94.0 ± 0.9	85.4 ± 1.2

Laterality of twin pregnancies also affects pregnancy loss as well as spontaneous embryo reduction. Pregnancy loss before 90 d in gestation was greater for cows with unilateral twins (35%) compared to bilateral twins (8%) in one experiment (Lopez-Gatius and Hunter, 2005). Interestingly, the rate of pregnancy loss of 8% reported for bilateral twins by Lopez-Gatius and Hunter (2005) is slightly less than the 13% loss reported to occur in Holstein cows from 27 to 31 d and 38 to 50 d of gestation based on transrectal ultrasonography in a summary of 14 studies (Santos *et al.*, 2004), and the 14% loss for cows with bilateral twins reported by Andreu-Vazquez *et al.* (2011). Laterality of twins also affects the incidence of dystocia as well as calf survival rate. In a long-term experiment in which cows were genetically selected for multiple ovulations, bilateral dizygotic twins had increased survival and body weight at birth, a longer gestation length, and less dystocia than unilateral dizygotic twins (Echternkamp *et al.*, 2007; Table 4). Cows calving twins or triplets, however, had a greater incidence of dystocia than cows calving singletons (Echternkamp *et al.*, 2007).

Pregnancy-Associated Glycoproteins. Circulating PAG levels in both blood and milk are associated with stage of gestation, parity, pregnancy loss, and milk production and can be accurately used to diagnose pregnancy status in dairy cows (Ricci *et al.*, 2015). Cows carrying twin fetuses had greater serum PAG concentrations compared to cows carrying singleton fetuses (Lopez-Gatius *et al.*, 2007), and the difference in PAG levels increased as gestation progressed from 35 to 65 d after AI. In another experiment, the difference in PAG levels between cows carrying singleton vs. twin fetuses was significant by 27 to 29 d after AI (Giordano *et al.*, 2012). Several factors, however, may prevent accurate identification of cows carrying twins based on PAG levels. First, pregnancy loss from an initial pregnancy diagnosis to a pregnancy reconfirmation based on transrectal ultrasonography for cows diagnosed with twins was three-fold greater compared to cows diagnosed with singletons (Silva del Rio *et al.*, 2009). In addition, some cows diagnosed with twins (6% to 11%) at an early pregnancy diagnosis undergo spontaneous embryo reduction and go on to calve singletons (Lopez-Gatius and Hunter, 2005; Silva del Rio *et al.*, 2009). Thus, some cows diagnosed with twins early in gestation using PAG levels (or any other method) will calve singletons resulting in an overestimation of the true proportion of cows that calve twins. Second, because of the relatively long half-life of PAG levels in circulation, PAG levels did not decrease to levels similar to nonpregnant cows until 9.5 d after induction of pregnancy loss at 39 d in gestation (Giordano *et al.*, 2012). If PAG levels were to be used as a diagnostic indicator for identification of cows carrying twins, the exact day of gestation would have to be submitted with the blood or milk sample at the time of testing. Even if this could be accomplished accurately, most commercial PAG tests are qualitative rather than quantitative and would not be useful for differentiating PAG levels as a diagnostic indicator of twins.

Strategies for Managing Twinning

Pregnancy Termination. One method to dramatically reduce or eliminate twinning in a dairy herd is to identify cows carrying twins and induce pregnancy loss by administration of a luteolytic agent such as prostaglandin $F_{2\alpha}$. For singleton pregnancies, treatment with a luteolytic dose of prostaglandin $F_{2\alpha}$ at 39 d in gestation decreased progesterone within 24 h and caused expulsion of the conceptus in all cows within 48 h (Giordano *et al.*, 2012). There are however several arguments against proactive termination of all twin pregnancies identified early in gestation. First, the economic loss incurred due to pregnancy loss has been estimated to range from $46 (Ferguson and Galligan, 2011) to $300 (Galligan *et al.*, 2009). Because the incidence of twinning increases with increasing milk production, cows diagnosed with twins often are the highest producing cows in the herd that incur the greatest economic loss associated with pregnancy loss. Second, although heritability and repeatability estimates for twinning in dairy cows are low (0.08 and 0.09, respectively; Van Vleck *et al.*, 1991; Gregory *et al.*, 1997), a prior incidence of twinning is a risk factor for subsequent twin births (Bendixen *et al.*, 1989; Nielen *et al.*, 1989). Third, pregnancy loss before 90 d in gestation for cows with unilateral twins did not differ between control cows and cows subjected to manual amnion rupture followed by progesterone treatment for 21 d (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011), whereas pregnancy loss for cows carrying bilateral twins (Lopez-Gatius and Hunter, 2005) was similar to that reported for Holsteins overall (Santos *et al.*, 2004). Finally, bilateral dizygotic twins had increased survival and body weight at birth, a longer gestation length, and less dystocia than unilateral dizygotic twins (Echternkamp *et al.*, 2007). Based on these data, a possible strategy would be to allow cows diagnosed with bilateral twins to continue gestation whereas selective reduction could be attempted for cows identified with unilateral twins. Because, twin and triplet births had a greater incidence of dystocia than single births (Echternkamp *et al.*, 2007), cows diagnosed pregnant with bilateral twins should be provided extra assistance at calving.

Selective Reduction. Selective embryo reduction early during gestation has been used to mitigate potentially dangerous maternal effects of multiple births in both women (Iberico *et al.*, 2000) and mares (Macpherson and Reimer, 2000). Reasonable success has been reported in mares when one twin was manually crushed when the procedure was performed before 30 d in gestation (Frazer, 2003). Two controlled experiments reported the efficacy of using manual crushing of the amnion of one of the embryos in an attempt to maintain a viable singleton pregnancy (Lopez-Gatius, 2005; Andreu-Vazquez *et al.*, 2011).

In the first experiment (Lopez-Gatius, 2005), 33 cows identified with unilateral twins were randomly assigned to one of three treatments: 1) untreated controls; 2) manual amnion rupture; and 3) manual amnion rupture plus progesterone treatment (PRID containing 1.55 g progesterone) for 28 d. Embryo reduction was attempted between 35 to 40 d in gestation because most cows undergo spontaneous reduction of twins

at this time (Lopez-Gatius and Hunter, 2005). Pregnancy loss for control cows (i.e., spontaneous loss of both twins) was 27% (3/11), whereas pregnancy loss for cows undergoing manual amnion rupture was 100% (11/11). Interestingly, pregnancy loss for cows treated with progesterone for 28 d after amnion rupture was 55% (6/11). One embryo from a cow treated with progesterone after manual amnion rupture survived and the cow calved twins, whereas the remaining five cows calved singletons (Lopez-Gatius, 2005).

Table 5. Effect of laterality of twin pregnancy on rates of pregnancy loss before Day 90 for control cows (no manipulation) and cows subjected to manual twin reduction followed by progesterone treatment for 21 d (adapted from Andrieu-Vazquez *et al.*, 2011).

Item	n	Loss rate before 90 d % (n/n)
Unilateral twin pregnancy	27	
Control	14	64 (9/14)
Manual twin reduction	13	54 (7/13)
Bilateral twin pregnancy	28	
Control	14	0 (0/14)
Manual twin reduction	14	29 (4/14)

A follow-up experiment was conducted to evaluate the effect on pregnancy maintenance of embryo reduction via manual rupture of the amnion in Holstein cows diagnosed with both unilateral and bilateral twin pregnancies (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011; Table 5). At 35 to 41 d of gestation, 55 cows identified with live twins using transrectal ultrasonography were blocked by laterality and randomly assigned to manual reduction followed by treatment with progesterone (PRID containing 1.55 g progesterone) for 21 d or served as untreated controls in which no manipulation was done. Pregnancy loss before 90 d in gestation did not differ between treatments and occurred in 32% of control cows and 41% of cows after manual amnion rupture followed by progesterone for 21 d. Independent of treatment, risk of pregnancy loss was 8.7 times greater for unilateral compared to bilateral twin pregnancies, yet pregnancy loss did not differ between control cows with unilateral twins and unilateral twin reduction cows (62% vs 54%, respectively). By contrast, 29% of cows with bilateral twin pregnancies subjected to twin reduction lost their pregnancies, whereas no losses occurred in control cows with bilateral twin pregnancies. Overall, 44% (12/27) of cows subjected to manual amnion rupture went on to calve singletons compared to 54% (15/28) of control cows which went on to calve twins. The authors concluded that embryo reduction by manual amnion rupture followed by progesterone treatment did not experience an additional risk of pregnancy loss for unilateral twin pregnancies, whereas it increased the risk of pregnancy loss in bilateral twin pregnancies (Andreu-Vazquez *et al.*, 2011).

Nutritional Management during the Transition Period. Energy demands during gestation are 50% to 70% greater for cows carrying twins compared to singletons (Koong *et al.*, 1982; Nishida *et al.*, 1997), yet cows carrying twins have less prepartum DMI than herdmates carrying singletons (Van Saun, 1993). In addition, cows carrying twins have a decreased gestation length and therefore are less likely to experience a full three-week exposure to a close-up diet during the dry period (Nielen *et al.*, 1989). Thus, feeding management strategies may offer an opportunity to mitigate the negative effects of twinning in dairy cattle (Bell and Roberts, 2007).

We conducted an experiment to evaluate the effect of dry period feeding management on metabolic status and lactation performance in Holstein cows carrying singleton vs. twin pregnancies (Silva del Rio *et al.*, 2010). Dry period feeding management consisted of feeding a moderate-energy close up diet throughout the entire dry period (8 week close-up) versus feeding a far-off diet from 60 to 21 d before expected calving date followed by a close-up diet until calving (3 week close-up). Treatments were arranged in a 2 × 2 factorial design with a randomized block design that included 47 Holstein cows. Our hypothesis was that increasing the duration of feeding a close-up diet during the dry period would improve metabolic status and lactation performance for cows carrying twins, but not for cows carrying singletons. Contrary to our hypothesis, metabolic response to dry period feeding strategy was independent of twin status (Silva del Rio *et al.*, 2010) indicating that altering nutritional management to increase energy during the dry period did not improve metabolic status for cows carrying twins. Interestingly, there was an effect of diet in which cows fed a moderate energy diet throughout the entire dry period had greater milk production compared to cows fed according to the NRC (2001) energy requirements for the entire dry period (i.e., a far-off diet followed by a close-up diet for 3 weeks). Based on our results (Silva del Rio *et al.*, 2010), differential management of cows carrying twins during the dry period did not improve metabolic status of cows carrying twins.

Hormonal Manipulation before AI to Reduce Double Ovulation. Dairy farmers have adopted hormonal synchronization protocols for use in reproductive management programs for dairy cows (Carievello *et al.*, 2006), and the use of synchronization protocols for inseminating dairy cows has increased over time (Norman *et al.*, 2009). Twinning also has increased in women over time, and this increase has been attributed to the increased use of exogenous hormones and in vitro fertilization during assisted fertility treatments (Imaizumi, 2003). Although the endocrine physiology differs dramatically between these situations, dairy farmers often associate the increased use of hormonal synchronization protocols with increased twinning. A common strategy to submit cows for first insemination on farms is to use a Presynch Ovsynch protocol and combine AI to detection of estrus after the Presynch portion of the protocol with submission of cows failing to be detected in estrus to timed AI after an Ovsynch protocol (Fricke *et al.*, 2014). Under this management system, cows receiving timed AI after an Ovsynch protocol differ from cows inseminated to estrus in that they are likely the highest producing cows that express estrus for a shorter duration (Lopez *et al.*, 2004) and anovular cows that have low progesterone at the onset of the Ovsynch protocol. Both of these conditions are risk factors for double ovulation and twinning as discussed previously. Contrary to the idea that hormonal synchronization protocols increase twinning, hormonal manipulation of cows so that progesterone was increased during development of the ovulatory follicle resulted in a decreased incidence of double ovulation (Stevenson *et al.*, 2007; Cerri *et al.*, 2011). A Double Ovsynch protocol (Souza *et al.*, 2008; Herlihy *et al.*, 2012) effectively presynchronizes cows to maximize progesterone during growth of the ovulatory follicle (Wiltbank *et al.*, 2014) and should thereby decrease double ovulation rate and subsequent dizygotic twinning.

Table 6. Effect of progesterone during growth of the preovulatory follicle on incidence of double ovulation in Holstein dairy cows (adapted from Cunha *et al.*, 2008).

Double ovulation rate	Low progesterone % (n/n)	High progesterone % (n/n)	P-value
Overall	23 (54/231)	12 (32/261)	<0.001
Primiparous cows	20 (21/105)	10 (11/115)	0.022
Multiparous cows	26 (33/126)	14 (21/146)	0.011

To test the effect of progesterone during growth of the ovulatory follicle on the incidence of double ovulation, Holstein cows were randomly assigned to two presynchronization protocols that manipulated cows into either a high or a low progesterone environment during an Ovsynch protocol (Cunha *et al.*, 2008; Table 6). Cows in the high progesterone treatment were submitted to a Double Ovsynch protocol (Souza *et al.*, 2008) and had more progesterone at the first GnRH treatment of the Ovsynch protocol (1.8 vs. 0.3 ng/mL, respectively) and at the $PGF_{2\alpha}$ treatment of the Ovsynch protocol (4.4 vs. 2.2 ng/mL) compared to cows in the low progesterone treatment (Cunha *et al.*, 2008). Ovulatory response to the last GnRH treatment of the Ovsynch protocol was similar between treatments; however, cows in the low progesterone treatment, had more double ovulations compared to cows in the high progesterone treatment (Cunha *et al.*, 2008). Furthermore, fertility was greater (48% vs. 33%) and pregnancy loss was less (4% vs. 16%) for cows in the high vs. the low progesterone treatment (Cunha *et al.*, 2008). Thus, increasing progesterone during growth of the ovulatory follicle dramatically decreased double ovulation rate while increasing fertility and decreasing subsequent pregnancy loss. Use of a hormonal synchronization protocol such as Double Ovsynch, therefore, decreases double ovulation rate thereby decreasing the dizygotic twinning rate in high-producing dairy cows. Hormonal manipulation may be the best strategy to decrease twinning in dairy cows by decreasing the incidence of double ovulation thereby decreasing conception of dizygotic twins.

CONCLUSION

Based on data in this review, we can now formulate a two-pronged approach to decrease the negative impact of twinning in dairy cows. First, the incidence of double ovulation and dizygotic twinning can be decreased in high-producing Holstein cows by hormonally manipulating ovarian function to increase progesterone during growth of the preovulatory follicle before AI. The best strategy to accomplish this is to submit cows to first timed AI after a Double Ovsynch protocol. Second, because bilateral dizygotic twins had increased survival and body weight at birth, a longer gestation length, and less dystocia than unilateral dizygotic twins, cows identified with bilateral twins early during gestation should be allowed to continue gestation with extra assistance provided to these cows at calving. Because selective reduction of unilateral twins resulted in similar pregnancy loss compared to control cows with unilateral twins, selective reduction can be attempted for cows diagnosed with unilateral twins with the realization that overall pregnancy losses for unilateral twins exceeded 50%. Overall, this strategy should decrease the incidence of twinning in a dairy herd while minimizing the negative impacts of twinning for the cows that do conceive twins.

LITERATURE CITED

- Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, Ganau S, Fricke PM, López-Gatius F: Effects of twinning on the subsequent reproductive performance and productive lifespan of high-producing dairy cows. Theirogenology 78:2061-2070, 2012.
- Andreu-Vázquez C, Garcia-Ispierto I, López-Béjar M, de Sousa NM, Beckers JF, López-Gatius F: Clinical implications of induced twin reduction in dairy cattle. *Theriogenology* 76:512-521, 2011.
- Bell MJ, Roberts DJ: Effect of twinning on the feed intake, performance and health of dairy cows. *Livest Prod Sci* 107:274-281, 2007.
- Bendixen PH, Oltenacu PA, Andersson L: Case-referent study of cystic ovaries as a risk indicator for twin calvings in dairy cows. *Theriogenology* 31:1059-66, 1989.
- Bonnier G: Studies on monozygotic cattle twins. II. Frequency of monozygotic twins. *Acta Agr Suecana* 1:147-51, 1946.
- Cerri RLA, Chebel RC, Rivera F, Narciso CD, Oliveira RA, Thatcher WW, Santos JEP: Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *J Dairy Sci* 94:3342-3351, 2011.
- Cunha AP, Guenther JN, Maroney MJ, Giordano JO, Nascimento AB, Bas S, Ayers H, Wiltbank MC: Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. J Dairy Sci 91(E-Suppl 1):246 (abstr), 2008.
- Davis ME, Haibel GK: Use of real-time ultrasound to identify multiple fetuses in beef cattle. *Theriogenology* 40:373-382, 1993.
- Dobson H. Rowan TG, Kippax IS, Humblot P: Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. *Theriogenology* 40:411-425, 1993.
- Echternkamp SE, Gregory KE: Identification of twin pregnancies in cattle by ultrasonography. *J Anim Sci* 69(Suppl.1):220. (Abstr.), 1991.
- Echternkamp SE, Thallman RM, Cushman RA, Allan MF, Gregory KE: Increased calf production in cattle selected for twin ovulations. *J Anim Sci* 85:3239-3248, 2007.
- Ferguson JD, Galligan DT: The value of pregnancy diagnosis–A revisit to an old art. *Theriogenology Annu Conf Symp*, Milwaukee, WI. Society of Theriogenology, Montgomery, AL, 2011.
- Frazer GS: Twins. In: Robinson NE, editor. Current Therapy in Equine Medicine, 5th edition. Elsevier Science pp. 245-248, 2003.
- Fricke PM: Scanning the future – ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. J Dairy Sci 85:1918-1926, 2002.
- Fricke PM: Review: Twinning in dairy cattle. Prof Anim Sci 17:61-67, 2001.
- Fricke PM, Giordano JO, Valenza A, Lopes Jr. G, Amundson MC, Carvalho PD: Reproductive performance of lactating dairy cows managed for first service using timed artificial insemination with or without detection of estrus using an activity monitoring system. *J Dairy Sci* 97:2771-2781, 2014.

- Fricke PM, Wiltbank MC: Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. Theriogenology 52:1133-1143, 1999.
- Galligan DT, Ferguson J, Munson R, Remsburg D, Skidmore A: Economic concepts regarding early pregnancy testing. Pages 48-53 In: Proc Am Assoc Bovine Pract, Omaha, NE. Am Assoc Bovine Pract, Auburn, AL, 2009.
- Giordano JO, Guenther JN, Lopes Jr G, Fricke PM: 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, 2012.
- Gregory KE, Bennett GL, Van Vleck LD, Echternkamp SE, Cundiff LV: Genetic and environmental parameters for ovulation rate, twinning rate, and weight traits in a cattle population selected for twinning. J Anim Sci 75:1213-1222, 1997.
- Gümen A, Guenther JN, Wiltbank MC: Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. J Dairy Sci 86:3184-3194, 2003.
- Hayashi KG, Matsui M, Shimizu T, Sudo N, Sato A, Shirasuna K, Tetsuka M, Kida K, Schams D, Miyamoto A: The absence of corpus luteum formation alters the endocrine profile and affects follicular development during the first follicular wave in cattle. *Reproduction* 136:787-797, 2008.
- Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE: Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 73:2749-2758, 1990.
- Herlihy MM, Giordano JO, Souza AH, Ayres H, Ferriera RM, Keskin A, Nascimento AB, Guenther JN, Gaska JM, Kacuba SJ, Crowe MA, Butler ST, Wiltbank MC: Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. J Dairy Sci 95:7003-7014, 2012.
- Iberico G, Mavarro J, Blasco L, Simon C, Pellicer A, Remohi J: Embryo reduction of multifetal pregnancies following assisted reproduction treatment: A modification of the transvaginal ultrasound-guided technique. Hum Reprod 15:2228-2233, 2000.
- Imaizumi Y: A comparative study of zygotic twinning and triplet rates in eight countries. J Biosoc Sci 35:287-302, 2003.
- Johanson JM, Bergert PJ, Kirkpatrick BW, Dentine MR: Twinning rates for North American Holstein sires. J Dairy Sci 84:2081-2088, 2001.
- Kinesl ML, Marsh WE, Ruegg PL, Etherington WG: Risk factors for twinning in dairy cows. J Dairy Sci 81:989-993, 1998.
- Koong LJ, Anderson GB, Garrett WN: Maternal energy status of beef cattle during single and twin pregnancy. *J Anim Sci* 54:480-484, 1982.
- Labhsetwar AP, Tyler WJ, Casida LE: Analysis of variation in some factors affecting multiple ovulations in Holstein cattle. *J Dairy Sci* 46:840-8422, 1963.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC: Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 88:2783-93, 2005.
- Lopez H, Sartori R, Wiltbank MC: Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle. Biol Reprod 72:788-795, 2005.
- Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC: Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 81:209-223, 2004.
- López-Gatius F: The effect on pregnancy rate of progesterone administration after manual reduction of twin embryos in dairy cattle. J Vet Med Assoc 52:199-201, 2005.
- López-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yaniz J, Ayad A, de Sousz NM, Beckers JF: Milk pfoduction correlated negatively with plasma levels of pregnancy-associated blycoprotein (PAG) during the early fetal period in high producing dairy cows with live fetuses. *Dom Anim Endocrinol* 32:29-42, 2007.
- López-Gatius F, Hunter RHF: Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle. Theriogenology 63:118-125, 2005.
- Lopez-Gatius F, Lopez-Bejar M, Fenech M, Hunter RH: Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. *Theriogenology* 63:1298-1307, 2005.
- Macpherson ML, Reimer JM: Twin reduction in the mare: Current options. Anim Reprod Sci 60-61:233-244, 2000.
- Nielen M, Schukken YH, Scholl DT, Wilbrink HJ, Brand A: Twinning in dairy cattle: A study of risk factors and effects. Theriogenology 32:845-862, 1989.
- Nishida T, Kurihara M, Terada F, Shibata M: Energy requirements of pregnant Holstein dairy cows carrying single or twin Japanese black fetuses in late pregnancy. Anim Sci Technol 68:572-578, 1997.
- Norman D, Wright JR, Hubbard SM, Miller RH, Hutchison JL: Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. *J Dairy Sci* 92:3517-3528, 2009.
- NRC: Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. *Natl Acad Press*, Washington, DC, 2001.
- Ricci A, Carvalho PD, Amundson MC, Fourdraine RH, Vincenti L, Fricke PM: Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. J Dairy Sci 98:2502-2514, 2015.
- Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC: High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17β in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:2831-2842, 2002.
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN: The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 82-83:513-535, 2004.
- Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF: Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil* 88:569-579, 1990.
- Silva del Río N, Colloton JD, Fricke PM: Factors affecting pregnancy loss for single and twin pregnancies in a high-producing dairy herd. Theriogenology 71:1462-1471, 2009.

- Silva del Río N, Fricke PM, Grummer RR: Effects of twin pregnancy and dry period feeding strategy on milk production, energy balance, and metabolic profiles in dairy cows. J Anim Sci 88:1048-1060, 2010.
- Silva del Río N, Kirkpatrick BW, Fricke PM: Observed frequency of monozygotic twinning in Holstein dairy cattle. Theriogenology 66:1292-1299, 2006
- Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang YM, Fricke PM: An observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. J Dairy Sci 90:1255-1264, 2007.
- Souza AH, Ayers H, Ferreira RM, Wiltbank MC: A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70:208-215, 2008.
- Stevenson JS, Portaluppi MA, Tenhouse DE: Factors influencing upfront single- and multiple-ovulation incidence, progesterone, and luteolysis before a timed insemination resynchronization protocol. *J Dairy Sci* 90:5542-5551, 2007.
- Van Saun RJ: Effects of undegradable protein fed prepartum on subsequent lactation, reproduction, and health in Holstein dairy cattle. PhD Thesis. Cornell Univ., Ithaca, NY, 1993.
- Van Vleck LD, Gregory KE, Echternkamp SE: Ovulation rate and twinning rate in cattle: Heritabilities and genetic correlation. *J Anim Sci* 69:3213-3219, 1991.
- Weinberg W. Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Mehrlingsgeburten beim Menschen Pflügers. *Arch Ges Physiol* 88:346-430, 1902.
- Wiltbank MC, Fricke PM, Sangritasvong S, Sartori R, Ginther OJ: Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J Dairy Sci* 83:2998-3007, 2000.
- Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Disking MG: Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 8:70-81, 2014.

CASOS CLÍNICOS POCO COMUNES EN REBAÑOS LECHEROS

George Stilwell

Departamento Clínico, Facultad de Medicina Veterinaria
Universidad de Lisboa

Algunas enfermedades son esporádicas, sólo afectan a un animal y no muestran ninguna tendencia a propagarse a otros animales. Son en ocasiones ignoradas o pasadas por alto debido a que su impacto económico global no es muy importante. Sin embargo, los veterinarios deberían estar al tanto de estas condiciones y dolencias clínicas y deberían buscar un diagnóstico rápido para estos casos ya que tienen un mal pronóstico con probable sufrimiento. Normalmente se requiere la eutanasia en estos casos.

Por otra parte, las dolencias esporádicas pueden confundir al clínico y al granjero ya que algunas de las señales clínicas pueden ser similares a importantes enfermedades de ganadería y de producción. Se pueden evitar medidas redundantes y costes adicionales si se establece inmediatamente un diagnostico cuidadoso y preciso.

Para finalizar, los veterinarios pueden descuidar los primeros casos de enfermedades de ganadería simplemente porque muestran una expresión o evolución clínica atípica. La razón para buscar un diagnóstico inmediato es la urgencia de las medidas de control.

En esta conferencia describiremos algunos casos que hemos encontrado recientemente para alertar a los veterinarios sobre algunas características clínicas que consideramos cruciales en el diagnóstico diferencial. Aquí exponemos algunos ejemplos:

- La Amyloidosis renal es una condición rara normalmente relacionada con enfermedades inflamatorias crónicas previas. Puede ser confundida en algunas etapas con la Paratuberculosis o enfermedad de Johne´s, por lo que es primordial encontrar un diagnóstico correcto.
- La fiebre catarral maligna es una enfermedad fatal que puede asemejarse a la paustelerosis, IBR, enfermedad de la mucosa y otras. Evoluciona rápidamente en una enfermedad sistémica con signos neurológicos que incluyen convulsiones, dolor extremo etc... La eutanasia debe realizarse sin demora.
- La infección por E.coli de terneros recién nacidos puede tener diferentes manifestaciones clínicas. Los más normales son diarrea, deshidratación y shock séptico. Presentaremos dos casos de evolución menos característica que podrían haberse perdido o ser pasadas por alto.
- Los casos de Neoplasia (ej. pulmón, vejiga, hígado) no son frecuentes en el ganado, pero tienen una evolución lenta e implacable causando sufrimiento extremo. Se presentarán muestras clínicas típicas de algunos casos.
- Las enfermedades cardíacas (congénitas o adquiridas) son también esporádicas en el ganado y algunas se presentaran con su diagnóstico diferencial.

Presentaremos y comentaremos algunos otros casos inusuales.

ENGLISH VERSION

Less common clinical cases in cattle herds.

George Stilwell

Clinical Department, Faculty of Veterinary Medicine

University of Lisbon

Some diseases are sporadic, affect only one animal and show no tendency to spread to other animals. Because the overall economic impact is not very important they are sometimes disregarded or overlooked. However, practitioners should be well aware of these clinical conditions and diseases and should seek for a quick diagnosis of these cases as the prognosis is usually very poor and suffering very likely. For these reasons euthanasia is usually required.

On the other hand, sporadic diseases may mislead the clinician and farmer because some clinical signs may be similar to important herd and production diseases. Redundant measures and extra costs may be avoided if a careful and precise diagnosis is immediately established.

Finally, practitioners may neglect important first cases of herd diseases just because they show atypical clinical expression or evolution. The reason for an immediate diagnosis of these cases is the urgency of control measures.

In this talk we will describe some cases that we recently came across so as to alert practitioners to some clinical features that we considered crucial in the differential diagnosis. Here are a few examples:

- Renal amyloidosis is a rare condition usually related to previous chronic inflammatory diseases. It may be confused at some stages with Paratuberculosis or Johne's disease, and so a correct diagnosis is paramount.
- Malignant Catarrhal Fever is a fatal disease that may resemble pasteurellosis, IBR, Mucosal Disease and others. It evolves rapidly on to a systemic disease with neurological signs including convulsions, extreme pain etc... Euthanasia should be performed without delay.
- *E. coli* infection of newborn calves may have different clinical manifestations. The most usual are diarrhea, dehydration or septic shock. We will present two cases of more uncharacteristic evolution, that could have been missed or overlooked.
- Cases of neoplasia (e.g. lung, bladder, liver) are very infrequent in cattle, but they have a slow and unrelenting evolution causing extreme suffering. Typical clinical signs and adjuvant exams will be presented for a few cases.
- Heart diseases (congenital or acquired) are also sporadic in cattle and some of these will be presented along with their differential diagnosis.

Some other unusual cases will be presented and discussed.

LA INSULINA, LA INFLAMACIÓN Y LA LACTANCIA

Rodrigo Bicalho y Martin Zinicola

Universidad de Cornell

La importancia de la resistencia a la insulina en vacas lecheras de alta producción

La glucosa se utiliza para sintetizar la lactosa y es el principal factor para determinar el volumen de leche. En consecuencia, la demanda de glucosa aumenta rápidamente con el comienzo de la lactancia. El propionato producido por la fermentación ruminal es el sustrato principal para la gluconeogénesis hepática, que representa el 70% de la producción de glucosa (Aschenbach *et al.*, 2010). Tanto el flujo visceral portal-drenado y la extracción hepática de propionato aumentan después del parto (Reynolds *et al.*, 2003). Además de una mayor liberación de glucosa en el hígado postparto, su disponibilidad a la glándula mamaria es mejorada por un estado transitorio de resistencia a la insulina en los tejidos periféricos. La expresión del transportador de glucosa insulina dependiente GLUT4 se reduce en el músculo esquelético y el tejido adiposo después del parto (Komatsu *et al.*, 2005; Sadri *et al.*, 2010; Kuhla *et al.*, 2011) y la reducción de glucosa en sangre estimulada por insulina es inferior durante la lactancia temprana en comparación con el período preparto (Kerestes *et al.*, 2009). La respuesta reducida a la insulina favorece el proceso catabólico en el músculo esquelético y el tejido adiposo. Los análisis de espectrometría de masas del músculo semitendinoso representaron un aumento en el contenido de proteína de lactato deshidrogenasa junto con una reducción en la expresión de las enzimas del ciclo TCA, lo que indica que el piruvato se deriva hacia la síntesis de lactato en lugar de oxidación (Kuhla *et al.*, 2011). Se observó un aumento similar en la utilización de glucosa para la producción de lactato en el tejido adiposo de lactantes en comparación con ovejas que no estaban amamantando (Vernon y Taylor, 1988). La degradación muscular también puede aumentar el suministro hepático de aminoácidos glucogénicos, como la alanina. La lipólisis se regula positivamente durante el posparto temprano debido a una mayor capacidad de respuesta a las catecolaminas en el tejido adiposo, bajas concentraciones de insulina en la sangre y una menor sensibilidad periférica y receptividad a la insulina (McNamara y Hillers, 1986; Vernon y Taylor, 1988; Saremi *et al.*, 2014). El glicerol liberado de los triglicéridos durante la movilización del tejido adiposo es utilizado por el hígado para ayudar a la gluconeogénesis. Los resultados anteriormente mencionados apoyan las grandes contribuciones del lactato, alanina, y glicerol para la gluconeogénesis hepática posparto (Reynolds *et al.*, 2003).

Función hepática y salud metabólica durante el período de transición

La función hepática óptima es crítica para una adecuada transición a la lactancia. La liberación hepática de glucosa aumenta de 1,4 a 2,7 y 3,5 kg/día entre -9, 11 y 33 días en relación con el parto debido a la mayor absorción de sustratos y la expresión de las enzimas limitantes de la velocidad gluconeogénesis (Greenfield *et al.*, 2000; Reynolds *et al.*, 2003; Selim *et al.*, 2014). Además, el hígado extrae aproximadamente el 20% de los NEFA circulante y es el principal órgano implicado en el metabolismo de los lípidos durante el período de transición. Dentro de los hepatocitos, los NEFA se pueden esterificar en triacilglicerol, completamente oxidado para generar ATP, o parcialmente oxidado en cetonas y BHBA que puede usarse como fuente de energía por otros tejidos y como sustrato para la síntesis de grasa láctea. En consecuencia, el peso hepático y el consumo de oxígeno aumentan en un 23 y un 215% durante el primer mes de lactancia, respectivamente (Reynolds *et al.*, 2003; Von Soosten *et al.*, 2011).

Del 20 al 40% de las vacas lecheras en los diferentes niveles de producción de leche, las razas y los sistemas de gestión son incapaces de hacer frente a los cambios provocados por la lactancia y desarrollan trastornos metabólicos asociados con el metabolismo de los lípidos (McArt *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2013). La extracción hepática de ácidos grasos de la sangre como un porcentaje de la aportación total es algo constante en las vacas lecheras; por lo tanto, el aumento en la circulación de los NEFA postparto conduce a un aumento de 3 veces en la cantidad extraída del hígado en comparación con valores preparto (**Figura 2C**; Reynolds *et al.*, 2003). Debido a que el hígado bovino tiene capacidad limitada de exportación de lipoproteínas de muy baja densidad, la lipidosis hepática puede afectar a la mitad de las vacas lecheras durante la lactancia temprana (Drackley *et al.*, 2006).

La acumulación de los NEFA dentro de los hepatocitos no afecta directamente a la gluconeogénesis; sin embargo, disminuye la conversión de amoníaco en urea, lo que reduce la síntesis de glucosa a partir del propionato (Strang *et al.*, 1998; Overton *et al.*, 1999). La oxidación hepática aumenta durante la lactancia temprana, parcialmente debido a la β-oxidación de ácidos grasos. La oxidación del combustible aumenta el contenido de ATP de los hepatocitos, lo que reduce la tasa de disparo de las ramas vagales que inervan el hígado y emite señales de saciedad a los centros de alimentación en el cerebro (Allen *et al.*, 2009; Allen y Bradford, 2012). Por último, la oxidación completa de los NEFA se inhibe por la acumulación de ATP que conduce a la oxidación parcial en cetonas y BHBA. Las vacas con cetosis subclínica y / o concentraciones elevadas de los NEFA en suero tienen mayores riesgos de desarrollar abomaso desplazado (Duffield *et al.*, 2009), enfermedades uterinas (Dohoo y Martin, 1984; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010a), retraso en la reanudación de la ovulación posparto (Ribeiro *et al.*, 2013), y reducción del embarazo por inseminación y tasas de embarazo (Ospina *et al.*, 2010b, Ribeiro *et al.*, 2013). De particular importancia para la propuesta actual, la producción diaria de leche en vacas con cetosis subclínica es de 1.0 a 3.2 kg menor en comparación con la de las compañeras de granja sanas dependiendo del número de lactantes y el umbral utilizado para definir la enfermedad (Dohoo y Martin, 1984; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010b). Por lo tanto, se espera que acelerar la aclimatación hepática a la lactancia y aumentar su capacidad para manejar los desafíos metabólicos impuestos por la lactancia reduzca la lipidosis hepática y beneficie el consumo de alimento, el balance energético, la gluconeogénesis y la producción de leche.

La insulina suprime la gluconeogénesis en el hígado principalmente al inhibir la absorción de sustratos glucogénicos (Brockman, 1985). En consecuencia, se espera que el aumento de la resistencia hepática a la insulina estimule la absorción de nutrientes por el hígado y la gluconeogénesis en las vacas

lecheras. Además, los análisis de inmunohistoquímica y microscopía electrónica de tejido hepático de vacas lecheras mostraron un aumento en el daño del ADN y la apoptosis asociada con la acumulación de lípidos a medida que progresaba la lactancia (Tharwat *et al.*, 2012a; Tharwat *et al.*, 2012b).

Asociación de la concentración de insulina plasmática en el periparto con la producción de leche, enfermedades periparturientas y el comportamiento reproductivo de vacas Holstein

Debido a su acción anabólica, la insulina estimula la absorción de glucosa, aminoácidos y ácidos grasos en los tejidos corporales, mientras que inhibe las vías metabólicas para la producción de glucosa (Hart, 1983; De Koster y Opsomer, 2013). Es bien sabido que en vacas lecheras posparto, la secreción de insulina disminuye para priorizar el uso de glucosa para la producción de leche; esto se considera una de las principales adaptaciones endocrinas de las vacas lecheras desde el final del embarazo hasta la lactancia temprana (Hart, 1983, Bell, 1995, Bell y Bauman, 1997). Aquí describimos las concentraciones de insulina plasmática antes del parto y durante la lactancia temprana. De acuerdo con la literatura, se observó que la insulina circulante es suprimida después del parto para asegurar la disponibilidad de glucosa a la glándula mamaria insulino- independiente para la producción de grandes cantidades de leche.

Estudios anteriores han demostrado que la administración de insulina disminuye la producción de leche en vacas Holstein (Kronfeld *et al.*, 1963; Schmidt, 1966; Winkelman y Overton, 2013). Schmidt (1966) observó que las vacas primíparas que recibieron repetidas administraciones de una insulina de acción corta vieron reducida la producción de leche y el contenido en lactosa de la leche. Asimismo, Kronfeld *et al.* (1963) observaron una disminución en la producción de leche en vacas que habían recibido repetidas inyecciones de insulina de acción prolongada. En el presente estudio, hemos observado que las vacas con bajas concentraciones de insulina en el plasma producen más leche y significativamente más ECM y FCM en comparación con el vacas con insulina plasmática alta. Además, nuestros resultados están de acuerdo con el estudio realizado por Lucy *et al.* (2009). En ese estudio, las vacas Holstein norteamericanas produjeron más leche cuando se comparan con vacas Holstein-Friesian de Nueva Zelanda. Observaron que las vacas Holstein-Friesian de Nueva Zelanda tenían una mayor concentración de insulina en plasma 1 semana antes del parto y numéricamente superior en la primera semana postparto que las vacas Holstein Norteamericanas (Lucy *et al.*, 2009). Por lo tanto, los mencionados estudios apoyan nuestros hallazgos, que los bajos niveles de insulina se asocian con una mayor producción de leche. También observamos un grupo por la paridad de interacción cuando se analizó el rendimiento de leche de las vacas clasificadas como L-INS o H-INS en d 10, donde el incremento de la producción de leche fue impulsada por las vacas primíparas. Una explicación para esta observación podría ser las diferencias en el control de partición de nutrientes que existen entre vacas primíparas y multíparas, en el cual los animales de primera paridad promueven la utilización de los nutrientes en el crecimiento (Wathes *et al.*, 2011). Por lo tanto, las vacas primíparas que todavía tienen altas tasas de insulina circulante en el d 10 podrían redirigir el uso de glucosa hacia el crecimiento.

Los altos niveles de los NEFA en plasma durante el puerperio temprano han sido asociados con enfermedades periparturientas (Ospina *et al.*, 2010; Chapinal *et al.*, 2011; Chapinal *et al.*, 2012b). Ospina *et al.* (2010) informó que el elevado nivel de los NEFA posparto estaba asociado con abomaso desplazado, cetosis clínica y metritis. Sin embargo, Chapinal *et al.* (2011) no observó ninguna relación significativa entre el nivel de los NEFA posparto y el riesgo de diagnóstico de metritis. Además, los recientes trabajos realizados por nuestro grupo de investigación evaluó el potencial de las asociaciones de los NEFA postparto, el BHB y glucosa en las enfermedades uterinas (Bicalho *et al.*, 2017). En ese estudio, las concentraciones plasmáticas de los NEFA y BHB no estaban asociadas a la metritis o PVD. Aunque el propósito del presente estudio no fue medir la asociación entre las concentraciones de los NEFA y las enfermedades postparto, las vacas con baja insulina plasmática tenían los NEFA circulante elevados, y no tenían un mayor riesgo de diagnóstico de la metritis puerperal, hyperketonemia, metritis, mastitis, y PVD en comparación con las vacas con altos niveles de insulina. En contraste, se detectó que las vacas multíparas clasificadas como L-INS en d 10 tuvieron un riesgo menor de PVD en comparación con las vacas H-INS.

Por último, medimos la relación entre las concentraciones de insulina en el calostro y en el plasma a los 7 d antes de la esperada fecha de parto y dentro de las 12 horas, en relación con el parto. Es sabido que la insulina en el calostro juega un papel en el desarrollo intestinal postnatal (Shehadeh *et al.*, 2006; Hammon *et al.*, 2013). Ronge y Blum (1988) observaron que la concentración de insulina de calostro era ~20 veces mayor que en el plasma de preparto y ~35 veces superior al de la leche (Ronge y Blum, 1988). Además, un estudio reciente muestra que la concentración de insulina de calostro era ~80 veces mayor que en el plasma preparto (Mann *et al.*, 2016). En el presente estudio, hemos observado que la concentración de insulina de calostro fue ~100 veces superior a la de la plasma preparto. Sin embargo, el mecanismo de transporte de la insulina circulante en la glándula mamaria no se entiende. La notable diferencia entre la concentración de insulina en el plasma y el calostro sugiere que la insulina es transportada activa y no pasivamente desde la sangre a la glándula mamaria. Aquí, observamos que no existe ninguna relación entre la insulina plasmática y la insulina del calostro a -7 d del esperado día del parto o dentro de las 12 horas después del parto. Sin embargo, el estudio realizado por Mann *et al.* (2016) reveló una correlación positiva moderada entre la insulina plasmática y la insulina del calostro en el d 1 a 3 del preparto (Mann *et al.*, 2016). Se necesitan más investigaciones para dilucidar el mecanismo exacto de la absorción de insulina por parte de la glándula mamaria.

ENGLISH VERSION

Insulin, inflammation, and lactation

Rodrigo Bicalho and Martin Zinicola

Cornell University

The importance of insulin resistance in high-producing dairy cows

Glucose is used for synthesis of lactose and is the main factor determining milk volume. Accordingly, the demand for glucose increases rapidly with the onset of lactation. Propionate produced by ruminal fermentation is the major substrate for hepatic gluconeogenesis, accounting for 70% of glucose production (Aschenbach *et al.*, 2010). Both the portal-drained visceral flux and hepatic extraction of propionate increase after parturition (Reynolds *et al.*, 2003). In addition to a greater release of glucose by the liver postpartum, its availability to the mammary gland is enhanced by a transient state of insulin

resistance in peripheral tissues. The expression of insulin-dependent glucose transporter GLUT4 is reduced in skeletal muscle and adipose tissue after calving (Komatsu *et al.*, 2005; Sadri *et al.*, 2010; Kuhla *et al.*, 2011) and insulin-stimulated reduction in blood glucose is smaller during early lactation compared with the prepartum period (Kerestes *et al.*, 2009). Reduced response to insulin favors catabolic process in skeletal muscle and adipose tissue. Mass spectrometry analyses of the semitendinosus muscle depicted an increase in the protein content of lactate dehydrogenase concurrent with a reduction in the expression of TCA cycle enzymes, indicating that pyruvate is being shunted toward synthesis of lactate rather than oxidation (Kuhla *et al.*, 2011). A similar increase in the utilization of glucose for lactate production was observed in the adipose tissue of lactating compared with non-lactating sheep (Vernon and Taylor, 1988). Muscle breakdown may also increase the hepatic supply of glucogenic amino acids, such as alanine. Lipolysis is upregulated during early postpartum because of increased responsiveness to catecholamines in the adipose tissue, low concentrations of insulin in blood, and decreased peripheral sensitivity and responsiveness to insulin (McNamara and Hillers, 1986; Vernon and Taylor, 1988; Saremi *et al.*, 2014). Glycerol released from triglycerides during mobilization of adipose tissue is used by the liver to support gluconeogenesis. The aforementioned results support the greater contributions of lactate, alanine, and glycerol to hepatic gluconeogenesis postpartum (Reynolds *et al.*, 2003).

Hepatic function and metabolic health during the transition period

Optimal hepatic function is critical for proper transition into lactation. The hepatic release of glucose increases from 1.4, to 2.7, and to 3.5 kg/day between -9, 11, and 33 days relative to parturition due to greater uptake of substrates and expression of gluconeogenesis rate-limiting enzymes (Greenfield *et al.*, 2000; Reynolds *et al.*, 2003; Selim *et al.*, 2014). Moreover, the liver extracts about 20% of the circulating NEFA and is the major organ involved with lipid metabolism during the transition period. Within the hepatocytes, NEFA can be esterified into triacylglycerol, completely oxidized to generate ATP, or partially oxidized into ketones and BHBA that can be used as an energy source by other tissues and as a substrate for milk fat synthesis. Accordingly, hepatic weight and oxygen consumption increase by 23 and 215% during the first month of lactation, respectively (Reynolds *et al.*, 2003; Von Soosten *et al.*, 2011).

From 20 to 40% of dairy cows across different levels of milk production, breeds, and management systems are unable to cope with the changes caused by lactation and develop metabolic disorders associated with lipid metabolism (McArt *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2013). Hepatic removal of fatty acids from blood as a percentage of the total supply is somewhat constant in dairy cows; therefore, the steep rise in circulating NEFA postpartum leads to a 3-fold increase in the amount extracted by the liver compared with prepartum values (**Figure 2C**; Reynolds *et al.*, 2003). Because the bovine liver has limited capacity to export very-low density lipoproteins, hepatic lipidosis might affect half of dairy cows during early lactation (Drackley *et al.*, 2006).

Accumulation of NEFA within the hepatocytes does not impair gluconeogenesis directly; however, it decreases the conversion of ammonia into urea, which reduces the synthesis of glucose from propionate (Strang *et al.*, 1998; Overton *et al.*, 1999). Hepatic oxidation increases during early lactation, partially due to fatty acid β-oxidation. Fuel oxidation increases ATP content of hepatocytes, which reduces the firing rate of vagal branches that innervate the liver and emits signals satiety to feeding centers in the brain (Allen *et al.*, 2009; Allen and Bradford, 2012). Lastly, complete oxidation of NEFA is inhibited by the accumulation of ATP leading to partial oxidation into ketones and BHBA. Cows with subclinical ketosis and/or elevated NEFA concentrations in serum have greater risks of developing displaced abomasum (Duffield *et al.*, 2009), uterine diseases (Dohoo and Martin, 1984; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010a), delayed resumption of ovulation postpartum (Ribeiro *et al.*, 2013), and reduced pregnancy per insemination and pregnancy rates (Ospina *et al.*, 2010b; Ribeiro *et al.*, 2013). Of particular importance for the current proposal, daily milk yield in cows with subclinical ketosis is 1.0 to 3.2 kg smaller compared with that of healthy herdmates depending upon lactation number and the threshold used to define disease (Dohoo and Martin, 1984; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010b). Hence, accelerating liver acclimation to lactation and increasing its capacity to handle the metabolic challenges imposed by lactation is expected to reduce hepatic lipidosis and benefit feed intake, energy balance, gluconeogenesis, and milk yield.

Insulin suppresses gluconeogenesis in the liver mostly by inhibiting the uptake of glucogenic substrates (Brockman, 1985). Consequently, increasing hepatic resistance to insulin is expected to stimulate nutrient uptake by the liver and gluconeogenesis in dairy cows. Furthermore, immunohistochemistry and electron microscopic analyses of hepatic tissue from dairy cows depicted an increase in DNA damage and apoptosis associated with lipid accumulation as lactation progressed (Tharwat *et al.*, 2012a; Tharwat *et al.*, 2012b).

Association of peripartum plasma insulin concentration with milk production, periparturient diseases, and reproductive performance of Holstein cows

Due to its anabolic action, insulin stimulates the uptake of glucose, amino acids, and fatty acids into body tissues, while it inhibits metabolic pathways for glucose production (Hart, 1983; De Koster and Opsomer, 2013). It is well known that in postpartum dairy cows, insulin secretion is diminished to prioritize the use of glucose for milk production; this is considered one of the major endocrine adaptations of dairy cows from late pregnancy to early lactation (Hart, 1983; Bell, 1995; Bell and Bauman, 1997). Here, we described the plasma insulin concentrations before calving and during early lactation. In agreement with the literature, we observed that circulating insulin is suppressed after parturition to assure glucose availability to the insulin-independent mammary gland for production of copious amounts of milk.

Previous studies have shown that administration of insulin decreases milk yield in Holstein cows (Kronfeld *et al.*, 1963; Schmidt, 1966; Winkelman and Overton, 2013). Schmidt (1966) observed that primiparous cows that received repeated administrations of a short-acting insulin had reduced milk yield and lactose content of milk. Similarly, Kronfeld *et al.* (1963) observed a decrease in milk yield in cows given repeated injections of long-acting insulin. In the present study, we observed that cows with low plasma insulin concentrations produced significantly more milk and higher FCM and ECM compared with cows with high plasma insulin. Moreover, our results are in accordance with the study conducted by Lucy *et al.* (2009). In that study, North American Holstein cows produced more milk when compared with New Zealand Holstein-Friesian cows. They observed that New Zealand Holstein-Friesian cows tended to have higher plasma insulin concentration 1 wk prior to

calving and numerically higher on the first wk postpartum than North American Holstein cows (Lucy *et al.*, 2009). Therefore, the aforementioned studies support our findings, that low insulin is associated with higher milk production. We also observed a group by parity interaction when milk yield was analyzed from cows classified as L-INS or H-INS on d 10, where the increase in milk yield was driven by primiparous cows. An explanation for this observation may be the differences in the control of nutrient partitioning that exist between primiparous and multiparous cows, in which first-parity animals promote nutrient utilization into growth (Wathes *et al.*, 2011). Thus, primiparous cows that still have high circulating insulin on d 10 might redirect the use of glucose toward growth.

High plasma NEFA levels during early postpartum have been associated with periparturient diseases (Ospina *et al.*, 2010; Chapinal *et al.*, 2011; Chapinal *et al.*, 2012b). Ospina *et al.* (2010) reported that elevated postpartum NEFA was associated with displaced abomasum, clinical ketosis, and metritis. However, Chapinal *et al.* (2011) observed no significant relationship between postpartum NEFA level and risk of diagnosis of metritis. In addition, recent work performed by our research group evaluated the potential associations of postpartum NEFA, BHB, and glucose on uterine diseases (Bicalho *et al.*, 2017). In that study, the plasma concentrations of NEFA and BHB were not associated with metritis or PVD. Although the purpose of the present study was not to measure associations between NEFA concentrations and postpartum diseases, cows with low plasma insulin had significantly elevated circulating NEFA, and were not at higher risk for diagnosis of metritis, puerperal metritis, hyperketonemia, mastitis, and PVD compared with cows with high insulin levels. In contrast, we detected that multiparous cows classified as L-INS on d 10 had a lower risk of PVD compared with H-INS cows.

Lastly, we measured the relationship between insulin concentrations in colostrum and in plasma at 7 d before the expected day of calving and within 12 h relative to parturition. Insulin in colostrum is known to play a role in postnatal intestinal development (Shehadeh *et al.*, 2006; Hammon *et al.*, 2013). Ronge and Blum (1988) observed that the colostrum insulin concentration was ~20 times higher than in prepartum plasma and ~35 times higher than in milk (Ronge and Blum, 1988). In addition, a recent study shown that the colostrum insulin concentration was ~80 times higher than in prepartum plasma (Mann *et al.*, 2016). In the present study, we observed that the colostrum insulin concentration was ~100 times higher than in prepartum plasma. However, the transport mechanism of circulating insulin into the mammary gland is not understood. The dramatic difference in insulin concentration between plasma and colostrum suggests that insulin is actively and not passively transported from blood to the mammary gland. Here, we observed no relationship between plasma insulin and colostrum insulin levels, either at -7 d from the expected day of parturition or within 12 h after parturition. However, the study conducted by Mann *et al.* (2016) revealed a moderate positive correlation between plasma insulin and colostrum insulin on d 1 to 3 prepartum (Mann *et al.*, 2016). Further investigation is needed to elucidate the exact mechanism of insulin uptake by the mammary gland.

LA DIFÍCIL DISTOCIA Y COMPLICACIONES RESULTANTES

Richard Hopper, DVM, DACT

Facultad de MedicinaVeterinaria, Mississippi State University

INTRODUCCIÓN

La prestación de servicios obstétricos sigue siendo un aspecto importante de la práctica de animales grandes. El autor entiende perfectamente que el médico que lee esto, en virtud de su interés, es alguien para quién el tratamiento de la distocia bovina es una parte importante de su práctica y por lo tanto esto no incluirá una revisión de los cuidados básicos. Para una excelente revisión de la obstetricia bovina básica recomiendo la presentación del Dr. Drost de la Conferencia veterinaria de América del Norte, que se puede encontrar en www.ivis.org.

Normalmente, los casos que parecen tan difíciles lo son porque no son comunes y ocurren con poca frecuencia por lo tanto son casos que no proporcionan la oportunidad para retrospectivas publicadas en las revistas especializadas, y el debate del tratamiento a veces entra más bien en la categoría de "consejos prácticos". Si bien se hará un intento para ofrecer recomendaciones científicas sólidas para la mayoría de los casos cubiertos, se debe advertir al lector de que mucho de lo que sigue se basa en mi perspectiva y opinión.

Inercia uterina

Esto normalmente es el resultado de la hipocalcemia y por lo tanto su gestión/tratamiento es evidente. He observado algunos casos de lo que podría describirse como la inercia uterina primaria. La presentación típica es un caso en el que en la distocia que se examina, se encuentra que el feto no ha entrado en la pelvis (canal del parto). Estos casos suelen responder a la oxitocina. El problema que puede surgir es cuando intentas asistir en el parto (con tracción) de un becerro que no está en posición, de modo que la recomendación es administrar oxitocina y luego darle a la vaca entre 15-20 minutos (te vas a la cocina y te tomas una taza de café). Una vez que el ternero está en posición (pies / cabeza contra la pelvis)se puede proseguir con la asistencia para nacer (es probable que aún sea necesaria la tracción). Esto también es algo a tener en cuenta cuando una cesárea electiva se va a realizar y el ternero es completamente abdominal. Es muy difícil subir el útero con el ternero hasta el lugar de la incisión del flanco.

Torsión uterina

Debido a que un gran porcentaje de torsiones uterinas en las vacas son inferiores a 240° y se producen en el momento del parto, algunas pueden corregirse mediante rotación manual o con el uso de una barra de detorsión. La rotación manual puede realizarse empujando al feto mientras se agarra y gira una extremidad. Si consigues moverlo, balancea hacía delante y atrás alcanzando un arco de 8-10 (12) pulgadas, y voltéalo con un fuerte giro repentino. La mayoría de los veterinarios que hablan de habilidad para hacer esto son altos y tienen unos brazos y manos muy fuertes. Es más directo utilizar una barra de detorsión. Una cadena OB se fija en la forma que se indica a continuación y los pies del feto se colocan en los bucles. La barra se rota para corregir la torsión.

Además, la vaca puede ser vendada con una tabla (tablón en la técnica de flanco) para sujetar el feto/útero en su lugar cuando se voltea la vaca. Si todo lo demás falla se puede realizar una cesárea. Si te das cuenta al aproximarte al útero durante una cesárea que el útero puede girarse para permitir un parto vaginal, esto es preferible.

Roturas uterinas

La mayoría de las lesiones del útero son iatrogénicas y ocurren durante los esfuerzos para aliviar la distocia. Con pocas excepciones se producen en la cara dorsal del útero (craneal al cérvix) cuando el obstetra está intentando repeler una presentación podálica o durante la extracción forzosa de un feto grande. En el caso de la primera situación, la reparación es secundaria a la extracción del ternero y por lo tanto, se realiza una cesárea en el flanco y después de que se haya extraído el ternero, el defecto uterino puede abordarse y repararse a través de la incisión del flanco. En el segundo caso una sutura "ciega" de reparación a través de la vagina puede ser mejor.

Primero, veamos cómo es probable que se haya producido esta ruptura. En el caso de la rotura causada por la fuerza "excesiva" en nuestro intento de repeler el ternero, la pared uterina probablemente se debilitó por la necrosis de presión (isquémica). En la segunda situación, un gran ternero, un canal de parto "seco", y la extracción forzada se combinan para crear un exceso de plegamiento y cizallamiento posteriores de la pared uterina. Esas roturas son generalmente 5-30 cm de longitud, aunque algunos parecen casi circunferenciales.

Independientemente de la etiología de la rotura, la reparación puede no ser necesaria si es pequeña y dorsal. Debido a la rapidez de la involución uterina las roturas menores que el ancho de la mano generalmente estarán bien sin reparar. El tratamiento para estos puede limitarse a inyecciones repetidas de oxitocina durante las primeras 24-48 horas y 7-10 días de antibióticos. Si el corte es más grande se puede cerrar con una técnica de sutura "ciega". Enhebre una aguja atraumática (el tamaño y la forma se determina según su preferencia) con una longitud de 150 cm de catgut # 2 o # 3. Con la aguja en el punto medio de la sutura (doblado) hacer un nudo a unos 25 cm del extremo. A continuación, introduce la aguja en la vagina protegiendo la punta con los dedos hasta llegar a la ruptura. Comience su cierre a un extremo de la rotura. Después de atravesar la pared uterina (aproximadamente 1 cm lateral a la rotura) pase la aguja entre la sutura doblada y asegure el nudo. A continuación, cierre la rasgadura con un patrón continuo hasta que la última mordida se haga a 1cm lateral del final. Es importante apretar la sutura con cada tiro. Entonces usted podrá invertir y continuar la sutura de vuelta al sitio original y atar en la cola. La involución uterina sirve para cubrir pequeños problemas de aposición. El tratamiento recomendado incluye antibióticos y oxitocina.

Alternativamente, se ha recomendado el prolapso del útero, reparar el desgarro/lágrima externamente, y reponer el útero. Para prolapsar manualmente el útero, el cuello uterino debe estar completamente dilatado. Se administra epinefrina (10 cc 1: 1,000, vía intravenosa administrada muy lentamente o en 250 ml de solución salina) y se agarra y estira una carúncula en la parte más craneal del cuerno. Suturar el útero expuesto debe ser sencillo y se vuelve a colocar como siempre. Sin embargo,

debido a la ubicación de la gran mayoría de estas rasgaduras (muy cerca o adyacentes al cuello uterino), el área que se rasga no se exterioriza completamente después del prolapso y, además, en el caso de una rotura casi circunferencial, uno debería preguntarse si este procedimiento dará como resultado el prolapso del útero o su eliminación.

El Feto Enfisematoso

Esta presentación se da típicamente como una combinación de cuestiones de gestión; un cierre del cuello uterino, la ausencia de fluidos placentarios, y un feto inflamado y seco. La presentación de nalgas es un hallazgo común. El cuello uterino es la primera zonaa evaluar/abordar. Si usted puede pasar la mano y el cuello uterino se dilata, puede bombear 1-2 galones de lubricante y realizar una fetotomía.

Si apenas puedes pasar la mano a través del cérvix y no se dilata con su manipulación, la cesárea puede ser la mejor opción. Una línea media ventral proporciona la mejor exposición (y la menor contaminación del abdomen) en una presentación de nalgas enfisematosa. Si las finanzas son un problema en el caso del cuello uterino cerrado / apretado, puede intentar bombear 1 galón de aceite mineral, 1-2 cuartos de galón de agua con 2-4 gramos de tetraciclina a través del cuello uterino, y administrar antibióticos sistémicos y AINE. A continuación, puede volver dentro de 1-2 semanas y retirar las partes fetales y lavar el útero.

El Feto demasiado grande o Anormal

La clave con cualquiera de estos es darse cuenta al principio de sus tratamientos obstétricos para poder enfocar su gestión correctamente. Con pocas excepciones, tendrá que realizarse una fetotomía o una cesárea.

Cesárea-Fetotomía. Hechos/Consejos/Consideraciones

- Ternera Muerta o viva (valor del ternero?).

-Vaca en bastidor de sujeción, buenas instalaciones: la mayoría de los veterinarios pueden realizar una cesárea más rápido que una fetotomía completa.

- Muchos terneros muertos (incluyendo los anormales, es decir Schistosomus) pueden extraerse con 1-2 cortes en una fetotomía.

- El retorno de la vaca a la función, la fertilidad futura.

- Fetotomía siempre más fácil de pie.

- Enfoques de cesárea: El flanco izquierdo casi siempre es el mejor, incluso si la vaca está tumbada. La línea media ventral es mejor para las vaquillas menores de 650 lb o para presentaciones de nalgas enfisematosas.

- Siempre haga la incisión uterina más larga de lo que usted piensa que necesita.

- En el caso de una contaminación abdominal con cesárea, utilice un trocar de rumen y empuje desde el abdomen en la parte más ventral. Esto facilitará el lavado abdominal mejor que nada.

Consejos en caso de prolapso uterino.

- Educación del cliente: asegúrese de que la vaca esté sujeta y coloque el útero en una bolsa de basura.

- Epidural y bloqueo del nervio pudendo si es necesario (véase las notas de cirugía)

- El correcto posicionamiento de la vaca- esternal, piernas hacia atrás (hasta el corvejón)

- Haga un Cateterismo de la vejiga si está distendida y causando problemas

- Tubo estomacal en la tráquea si hay un excesivo ronquido de esfuerzo y presión

- No retire la placenta a menos que esté muy sucio.

- Después de recolocarlo, haz un lavado uterino con solución salina tibia con Betadine™ (sacar siempre)

- No utilizo suturas de retención

- Poner la vaca en pie.

CONCLUSIÓN

Incluso con una gestión competente de la distocia bovina siempre existe la posibilidad de que haya complicaciones. Añada a esto el hecho de que los ganaderos sienten a menudo la necesidad de intervenir en estos casos antes de pedir nuestra asistencia y no es de extrañar que los veterinarios bovinos tengan la oportunidad de ver un montón de problemas obstétricos y urogenitales difíciles. Mientras que nuestro objetivo suele ser la restauración de la fertilidad, a menudo simplemente facilitar la recuperación para salvar la situación es un incentivo económico suficiente para intentar la mayoría de los sistemas de gestión o procedimientos quirúrgicos descritos.

Lecturas sugeridas:

- Drost, M. Dystocia and accidents of gestation. In: Hopper, RM (editor) Bovine Reproduction

ENGLISH VERSION

The difficult dystocia and resultant complications

Richard Hopper, DVM, DACT

College of Veterinary Medicine Mississippi State University

INTRODUCTION

The provision of obstetrical services continues to be an important aspect of the large animal practice. The author fully understands that the practitioner reading this, by virtue of their interest, is someone for which bovine dystocia management is a significant portion of their practice and therefore this will not include a review of basic care. For an excellent review of basic bovine obstetrics I recommend Dr. Drost's presentation from the North American Veterinary Conference, which can be found at www.ivis.org.

Typically, cases that seem difficult are so because they are not common and because infrequently occurring cases do not provide opportunity for journal retrospectives, discussion of management sometimes falls more into the category of "practice tips". While an attempt will be made to offer sounds scientific advice for most of the cases covered, the reader should be warned that much of what follows is based on my perspective or opinion.

Uterine Inertia

This commonly is a result of hypocalcemia and so management/ treatment is obvious. I have observed a few cases of what could be described as primary uterine inertia. The typical presentation is a dystocia case in which upon examination, you find that the fetus has not entered the pelvis (birth canal). These cases typically respond to oxytocin. The problem that can arise is when you attempt to deliver (with traction) the calf that is not in position, so the point is to administer oxytocin and then give the cow 15-20 minutes (go to kitchen and drink a cup of coffee). Once the calf is in position (feet/ head engaged in pelvis) the

calf can be delivered (traction will likely still be necessary). This is also something to consider when an elective C-section is to be performed and the calf is completely abdominal. It is very difficult to bring the uterus with calf up to the flank approach incision site.

Uterine Torsion

Because a large percentage of uterine torsions in the cow are less than 240° and occur at parturition some can be corrected by manual rotation or with the use of a detorsion bar. Manual rotation can be performed by repelling the fetus as you grasp and rotate a limb. If you get movement, rock back and forth attaining an 8-10 (12) inch arc, flip it on around with a sudden strong twist. Most of the veterinarians that relate their ability to do this are tall and have very good arm-hand strength. Using a Detorsion rod is more straight-forward. An OB chain is fixed in the manner illustrated below and the feet of the fetus are placed in the loops. The bar is then rotated so as to correct the twist.

Additionally, the cow can be cast and rolled with a plank utilized (plank in the flank technique) to hold the fetus/uterus in place as the cow is rolled over. If all else fails a C-section can be performed. If you realize in your approach to the uterus during a C-section that the uterus can be rotated to allow a vaginal delivery this is preferable.

Uterine Tears

Most injures to the uterus are iatrogenic and occur during efforts to relieve dystocia. With few exceptions they occur on the dorsal aspect of the uterus (cranial to the cervix) when the obstetrician is attempting to repel a breech presentation or during the forced extraction of a large fetus. In the case of the first situation repair is secondary to removal of the calf and so a flank c-section is performed and after the calf is delivered the uterine defect may be approached and repaired through the flank incision. In the second case a “blind” suture repair through the vagina may be best.

First let’s look at how this tear likely occurred. In the case of the tear we caused by “excessive” force in our attempt to repel the calf, the uterine wall was probably weakened by some level of pressure (ischemic) necrosis. In the second situation a large calf, a “dry” birth canal, and forced extraction combine to create an over-folding and subsequent shearing of the uterine wall. These tears are usually 5-30 cm in length although some seem almost circumferential.

Regardless what the etiology of the tear is, repair may not be necessary if it is small and dorsal. Because of rapid uterine involution tears smaller than the width of your hand will usually be OK without repair. Treatment for these can be limited to repeated oxytocin injections for the first 24-48 hours and 7-10 days of antibiotics. If the tear is larger it can be closed with a “blind” suture technique. Thread an atraumatic needle (size and shape is determined by your preference) with a 150cm length of #2 or #3 catgut. With the needle at the halfway point of the suture (doubled) make a knot about 25cm from the end. Next introduce the needle into the vagina guarding the point with your fingers until you reach the tear. At one end of the tear begin your closure. After going through the uterine wall (about 1cm lateral to the tear) run the needle between the doubled suture and cinch at knot. Then close the tear with a continuous pattern until the last bite is made 1cm lateral to the end. It is important to pull the suture tight with each throw. You will then reverse and continue the closure back to the original site and tie to the tail. Uterine involution serves to cover small appositional problems. Recommended treatment includes antibiotics and oxytocin.

Alternatively, it has been recommended to prolapse the uterus, repair the laceration/tear externally, and replace the uterus. To manually prolapse the uterus the cervix must be completely dilated. Epinephrine (10cc 1:1,000, IV administered very slowly or in 250ml of saline) is given and a caruncle in the cranial most aspect of the horn is grasped and pulled on. Suturing the exposed uterus should be straight forward and replacement is the same as usual. However, because of the location of the vast majority of these tears (very close or adjacent to the cervix), the area that is torn is not completely exteriorized following prolapse and more importantly in the case of the tear that is close to being circumferential one should question whether this procedure will result in the prolapsing of the uterus or its removal.

The Emphysematous Fetus

This presentation typically presents as a combination of management issues; a closing cervix, absence of placental fluids, and a dry, swollen fetus. A common finding is a breech presentation. The cervix is the first area to assess/address. If you can get your hand through and the cervix dilates you can pump in 1-2 gallons of lubricant and perform a fetotomy.

If you can barely get your hand through the cervix and it does not dilate with your manipulation a C-section may be your best option. A ventral midline provides the best exposure (and least contamination of the abdomen) for the emphysematous breech. If finances are an issue in the case of the closing/tight cervix, you might try pumping 1 gallon of mineral oil, 1-2 quarts of water with 2-4 grams of tetracycline through the cervix, and administering systemic antibiotics and NSAIDS. You can then return in 1-2 weeks and remove the fetal parts and lavage the uterus.

The Over-sized or Abnormal Fetus

The key with either of these is recognition early in your obstetrical efforts so that a correct management approach can be made. With few exceptions either a fetotomy or C-section will have to be performed.

C-section-Fetotomy Facts/Tips/Considerations

- Calf dead or alive (Calf’s value?).

- Cow in chute, good facilities- most veterinarians can perform a C-section faster than a complete fetotomy

- Many dead calves (including abnormal, ie Schistosomus) can be delivered with 1-2 fetotomy cuts.

- Cow’s return to function, future fertility.

- Fetotomy always easier standing

- C-section approaches: Left flank almost always best, even if cow is down. The ventral mid-line best for heifers under 650lb or for emphysematous breech.

- Always make uterine incision longer than you think you need to.

- If gross abdominal contamination with C-section Use a rumen trocar and push through from abdomen at most ventral aspect. This will facilitate abdominal lavage better than anything.

Uterine Prolapse Tips

- Client education- make sure cow restrained and place uterus in garbage bag

- Epidural and if necessary Pudendal Nerve Block (see surgery notes)

- Correct positioning of cow- sternal, legs back (up on hocks)

- Catheterize bladder if distended and causing problem

- Stomach tube in trachea if excessive grunt-pushing, straining

- I don't remove placenta unless very dirty

- After replacement lavage with warm saline with Betadine™ (always remove)

- I don't use retention sutures

- Get cow to feet.

CONCLUSION

Even with competent management of bovine dystocia complications are always a possibility. Add to this the fact that cattle producers often feel the need to intervene in these cases prior to seeking our assistance and it is no wonder that bovine veterinarians get the opportunity to see a lot of difficult obstetrical and urogenital problems. While our goal is usually the restoration of fertility, often simply facilitating recovery to allow salvage is economic incentive enough to attempt most of the management or surgical procedures described.

Suggested Reading:

• Drost, M. Dystocia and accidents of gestation. In: Hopper, RM (editor) Bovine Reproduction

LECHE DESNATADA O ENTERA—¿CUAL ES MÁS SALUDABLE?. REEVALUACIÓN DE LAS RECOMENDACIONES

JAVIER FONTECHA

CIAL-CSIC

El consumo de leche y productos lácteos sigue siendo motivo de controversia, lo que lleva a un debate altamente polarizado dentro de algunos medios de divulgación sensacionalistas o de pseudociencia (ej. redes sociales etc. a veces con mucho impacto social) que emiten mensajes negativos sin rigor, ni respaldo de evidencia científica.

La leche es un alimento básico para la primera etapa de la vida, pero también en la dieta del adolescente y del adulto, debido a su amplia gama de nutrientes. Entre los alimentos disponibles en la dieta, los lácteos aportan un excelente balance entre los constituyentes mayoritarios (proteínas, grasa, carbohidratos, minerales, vitaminas, etc.) y el contenido en calorías. Además, los distintos productos lácteos elaborados presentan amplios intervalos de composición, lo que les permite cubrir tanto diferentes hábitos de consumo, como distintas utilizaciones de interés nutricional dirigidas a estados fisiológicos específicos. Por todo ello, en general, hay consenso en cuanto a la importancia de los lácteos en la nutrición, en el marco de una dieta variada y equilibrada. Estudios recientes además, consideran la leche como la fuente más importante de componentes bioactivos naturales. Destaca su aporte de calcio, potasio y magnesio, asociados a una regulación de la tensión arterial, proteínas de alto valor biológico que contienen todos los aminoácidos esenciales y su elevada digestibilidad genera péptidos bioactivos.

No obstante, este consenso no se mantiene al considerar la grasa láctea. Su elevado contenido en ácidos grasos saturados y colesterol, ha sido utilizado como argumento para relacionar el consumo de leche entera con aumentos en obesidad y mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares. Esto ha llevado a elaborar recomendaciones nutricionales que aconsejan el consumo de leche desnatada de forma generalizada para toda la población.

Sin embargo, la grasa láctea figura entre los constituyentes más importantes de la leche, en razón de aspectos nutritivos y por las características físicas y organolépticas que imparten a los productos lácteos. Los componentes mayoritarios son triglicéridos cuyas propiedades dependen de los ácidos grasos; destacan también lípidos complejos (mayoritariamente fosfolípidos), colesterol y antioxidantes (especialmente tocoferoles). Los lípidos de la leche son además el vehículo de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K), de las que la leche es una buena fuente, así como carotenoides. Por otra parte, en la grasa de leche están presentes ácidos grasos y componentes bioactivos como el ácido butírico, linoleico conjugado (CLA), la esfingomielina y el ácido trans-palmitoleico, para los que se han descrito potenciales efectos cardioprotectores y de actividad cognitiva. Además, aunque el consumo de lácteos completos (con toda la grasa) se ha asociado negativamente con niveles más elevados de LDL-colesterol plasmático, igualmente se asocia de forma positiva con aumentos en los niveles de HDL-colesterol. Por ello, estudios recientes de meta-análisis de ensayos clínicos, no han confirmado que el consumo de productos lácteos enteros aumente el riesgo cardiovascular, en adolescentes o adultos sanos.

CONCLUSION

A la vista de los resultados científicos actuales y después de décadas de controversia, la imagen negativa de la grasa láctea se está viendo atenuada, detectándose un inicio de cambio de paradigma de la grasa láctea saturada y un creciente interés en todos aquellos aspectos que se refieren a los lípidos lácteos como fuente de ingredientes bioactivos y confirmándose la no asociación del consumo de lácteos enteros con el incremento de obesidad o de marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

ACTUALIZACIÓN SOBRE LA RELEVANCIA DEL STAPHYLOCOCCUS DE TIPO NO-AUREUS PARA LA SALUD DE LA UBRE BOVINA

Prof. dr. Sarne De Vliegher, DVM, PhD, MSc, Dipl. ECVPH

Universidad de Ghent
M-team and Mastitis and Milk Quality Research Unit, Department of Reproduction, Obstetrics, and Herd health, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium & MEXTM, Merelbeke, Belgium
www.m-team.UGent.be & www.mexcellence.eu

Como resultado de un mejor control de la mastitis clínica y subclínica causadas por Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae, el recuento de células somáticas en la leche a granel ha disminuido en muchas regiones del mundo. Mientras tanto, se ha observado un cambio hacia una mayor incidencia de infecciones intramamarias (IIM) causadas por los llamados patógenos ambientales (p. ej. Streptococcus uberis y Escherichia coli) y por los Staphylococcus no-aureus (NAS).

El grupo de NAS consta de más de 50 diferentes especies y subespecies, detectándose nuevas especies según hablamos. Aproximadamente unas 10 especies de NAS están causando las IIM en las vacas lecheras, siendo las especies más frecuentes el S. chromogenes, S. simulans, S. xylosus, S. epidermidis y S. haemolyticus, según aparece en muchos estudios, y que también son capaces de causar infecciones crónicas (Vanderhaeghen, *et al.* 2015). Se han validado una serie de nuevas herramientas (moleculares) para identificar las especies de NAS, siendo probablemente la MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight analyzer) el más utilizado hoy en día (Cameron *et al.*, 2017). Actualmente están en uso para dilucidar la relevancia de especies de NAS para la salud de las ubres bovinas.

Existía cierta confusión sobre la relevancia de los NAS como grupo, y algunos estudios los presentaban como virulentos; otros decían que carecían de importancia para la salud de las ubres, y otras incluso decían que tenían efectos protectoras. Al menos parte de esta confusión se originó por la ausencia de una diferenciación de los NAS. Al hacer estudios en los cuales se diferenciaron los NAS a nivel de especie, fue posible aclarar las diferencias específicas de cada especie en relación a su virulencia, impacto, epidemiología, adaptación, protección,...

La diversidad de las especies de NAS es grande cuando se estudian los diferentes nichos, como la leche bovina de cada cuarto, el medio ambiente de las vacas, los ápices de las ubres, la leche a granel, mientras que parece que una microflora NAS específica de cada rebaño en esos nichos es común. El Staphylococcus chromogenes y el S. epidermidis han sido identificados como las denominadas especies adaptadas de la ubre (causantes de la mayoría de los casos de IIM), el S. simulans y el S. haemolyticus son especies oportunistas (capaces de causar la IIM y también sobrevivir en el medio ambiente), y, por ejemplo, el S. equorum y S. fleurettii son los llamados especies medioambientales (típicamente cultivados en el medio ambiente de las vacas) (Vanderhaeghen, *et al.* 2015).

Los NAS, como grupo, se asocian con un aumento moderado en el recuento de células somáticas (leche total y de los cuartos por separado). El porcentaje de contribución de las IIM causados por los NAS al recuento de células somáticas en la leche a granel puede ser considerable, pero sólo en rebaños bien gestionados (Schukken *et al.*, 2009). El Staphylococcus chromogenes, el S. simulans, y el S. xylosus inducen un aumento en el conteo de células somáticas en la leche de un cuarto determinado que es comparable con la del S. aureus (Supré *et al.* 2011). Asimismo, casi todas las especies de NAS pueden causar una IIM persistente, siendo el S. chromogenes el causante de la mayoría de los casos. Sorprendentemente, la producción de leche es mayor en las novillas y vacas infectadas con NAS, en comparación con los animales no infectados (Piepers *et al.*, 2013). Numéricamente, esto también es cierto pare los cuartos infectados por NAS (Valckenier *et al.*, en preparación). Además, las novillas infectadas con NAS son menos propensas a desarrollar la mastitis clínica durante la primera lactancia.

Además de las IIM causadas por los NAS, se ha sugerido también que la colonización por NAS del ápice del pezón ejerce un efecto protector contra la IIM causada por grandes patógenos. Los posibles mecanismos podrían ser la exclusión competitiva de otros patógenos que causan la mastitis, la producción de sustancias inhibidoras como bacteriocinas, o el estímulo de la inmunidad innata. Algunos estudios, sin embargo, no confirman los aspectos protectores de las IIM pre-existentes causadas por NAS, ni de la colonización de los pezones, e incluso informan que los cuartos infectados por NAS corren un mayor riesgo de IIM posteriores causadas por los principales patógenos (Reyher *et al.*, 2012). La función protectora de las IIM causadas por los NAS y la colonización del pezón es inconclusa; sin embargo, unos trabajos recientes sugieren que algunas especies son capaces de inhibir la formación de biopelículas de otros especies de NAS y también del S. aureus (Goetz *et al.*, 2017).

Se están llevando a cabo muchas investigaciones apasionantes sobre los NAS, incluyendo la secuenciación del genoma completo, revelando lo que anteriormente se había sugerido: existen diferencias entre las especies de NAS y estas pueden ser relevantes. Algunas especies se adaptan mejor a la glándula mamaria que otras, afectan a la salud de la ubre de manera diferente, tienen más probabilidades de llevar genes que causan una virulencia y/o resistencia,... y hay muchas más diferencias entre las especies y dentro de las especies que tenemos que detectar. Aun así, podemos concluir que el tratamiento antimicrobiano de las IIM causadas por los NAS es raramente necesario, con la excepción de la ocasional infección crónica en un rebaño con un bajo recuento de células somáticas de la leche a granel.

BIBLIOGRAFÍA

- Cameron, M., H.W. Barkema, J. De Buck, S. De Vliegher, M. Chaffer, J. Lewis, and G.P. Keefe. 2017. Identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using a direct transfer protocol. J Dairy Sci. 100:2137-2147.

- Goetz, C., Y.D.N. Tremblay, D. Lamarche, A. Blondeau, A.M. Gaudreau, J. Labrie, F. Malouin, and M. Jacques. 2017. Coagulase-negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. J Dairy Sci. 100:6454-6464.
- Piepers, S., Y.H. Schukken, P. Passchyn, and S. De Vliegher. 2013. The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. J Dairy Sci. 96:5095-5105.
- Reyher, K.K., D. Haine, I.R. Dohoo, and C.W. Revie CW. 2012. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens–a systematic review and meta-analysis. J Dairy Sci. 95:6483-6502.
- Schukken, Y. H., R. N. González, L. L. Tikofsky, H. F. Schulte, C. G. Santisteban, F. L. Welcome, G. J. Bennett, M. J. Zurakowski, and R. N. Zadoks. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? Vet. Microbiol. 134:9-14.
- Supré, K., F. Haesebrouck, R. N. Zadoks, M. Vaneechoutte, S. Piepers, and S. De Vliegher. 2011. Some coagulase-negative Staphylococcus species affect udder health more than others. J. Dairy Sci. 94:2329-2340.
- Vanderhaeghen, W., S. Piepers, F. Leroy, E. Van Coillie, F. Haesebrouck, and S. De Vliegher. 2015. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase-negative staphylococci associated with ruminants. Vet. J. 203:44-51.

ENGLISH VERSION

Update on the relevance of non-*aureus* staphylococci for bovine udder health

Prof. dr. Sarne De Vliegher, DVM, PhD, MSc, Dipl. ECVPH

Ghent University

M-team and Mastitis and Milk Quality Research Unit, Department of Reproduction, Obstetrics, and Herd health, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium & MEXTM, Merelbeke, Belgium

www.m-team.UGent.be & www.mexcellence.eu

As a result of the better control of clinical and subclinical mastitis caused by Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae, the bulk milk somatic cell count has decreased in many areas of the world. In the meantime, a shift towards a higher incidence of intramammary infection (IMI) caused by the so-called environmental pathogens (e.g. Streptococcus uberis and Escherichia coli) and by the non-aureus staphylococci (NAS) has been observed.

The group of NAS consists of over more than 50 different species/subspecies with new species being described as we speak. Approximately 10 NAS species are causing IMI in dairy cows, with S. chromogenes, S. simulans, S. xylosus, S. epidermidis, and S. haemolyticus being the most prevalent species as reported in many studies, also capable of causing chronic infections (Vanderhaeghen, *et al.* 2015). A number of new (molecular) tools have now been validated for NAS species identification, with MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight analyzer) probable being the most used today (Cameron *et al.*, 2017). They are currently in use to further elucidate the relevance of NAS species for bovine udder health.

Some confusion existed on the relevance of the NAS as a group, with some studies reporting them to be virulent, others as of no importance for udder health, and others even as protective. At least part of this confusion originated from the absence of NAS differentiation. By setting up studies in which NAS were differentiated at the species level, it was possible to elucidate species-specific differences in virulence, impact, epidemiology, adaptation, protection , ...

The NAS species diversity when studying different niches such as bovine quarter milk, the environment of the cows, teat apices, bulk milk is large, whereas it seems a herd-specific NAS microflora in these niches is common. Staphylococcus chromogenes and S. epidermidis have been identified as so-called udder-adapted species (causing the majority of IMI), S. simulans and S. haemolyticus as opportunistic species (able to cause IMI but also surviving in the environment), and e.g. S. equorum and S. fleurettii as so-called environmental species (typically cultured from the environment of cows) (Vanderhaeghen, *et al.* 2015).

The NAS as a group are associated with a moderate increase in (composite and quarter milk) somatic cell count. The percentage contribution of NAS IMI to the bulk milk somatic cell count can still be substantial but only on well-managed herds (Schukken *et al.*, 2009). Staphylococcus chromogenes, S. simulans, and S. xylosus induce an increase in the quarter milk SCC that is comparable with that of S. aureus (Supré *et al.* 2011). Also, almost all NAS species are able to cause persistent IMI, with S. chromogenes causing the most. Surprisingly, milk production is higher in NAS infected heifers and cows, compared to non-infected animals (Piepers *et al.*, 2013). Numerically, this is also true for NAS-infected quarters (Valckenier *et al.*, in progress). Also, NAS-infected heifers are less likely to develop clinical mastitis throughout first lactation.

Besides NAS IMI, teat apex colonization by NAS has been suggested to exert a protective effect against IMI caused by major pathogens. Potential mechanisms could be competitive exclusion of other mastitis pathogens, production of inhibitory substances such as bacteriocins, or stimulation of the innate immunity. Some studies did, however, not confirm the protective aspects of pre-existing NAS IMI or teat colonization or reported that NAS-infected quarters were even at a higher risk for subsequent IMI with major pathogens (Reyher *et al.*, 2012). The protective role of NAS IMI and teat colonization remains inconclusive but recent work suggests that some species are able to inhibit biofilm formation of other NAS species but also of S. aureus (Goetz *et al.*, 2017).

Lots of exciting NAS research using molecular differentiation of species is currently being undertaken, including whole genome sequencing, revealing what was hypothesized before: difference between NAS species exist and can be relevant. Some species are more adapted to the mammary gland than others, affect udder health differently, are more likely to carry virulence and/or resistance genes,... with many more differences between species and within species to be detected. Still, we can conclude that antimicrobial treatment of NAS IMI is rarely needed, with the exception of the odd chronic infection on a herd with a low bulk milk somatic cell count.

REFERENCES

- Cameron, M., H.W. Barkema, J. De Buck, S. De Vliegher, M. Chaffer, J. Lewis, and G.P. Keefe. 2017. Identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight

mass spectrometry using a direct transfer protocol. J Dairy Sci. 100:2137-2147.

- Goetz, C., Y.D.N. Tremblay, D. Lamarche, A. Blondeau, A.M. Gaudreau, J. Labrie, F. Malouin, and M. Jacques. 2017. Coagulase-negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. J Dairy Sci. 100:6454-6464.
- Piepers, S., Y.H. Schukken, P. Passchyn, and S. De Vliegher. 2013. The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. J Dairy Sci. 96:5095-5105.
- Reyher, K.K., D. Haine, I.R. Dohoo, and C.W. Revie CW. 2012. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens–a systematic review and meta-analysis. J Dairy Sci. 95:6483-6502.
- Schukken, Y. H., R. N. González, L. L. Tikofsky, H. F. Schulte, C. G. Santisteban, F. L. Welcome, G. J. Bennett, M. J. Zurakowski, and R. N. Zadoks. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? Vet. Microbiol. 134:9-14.
- Supré, K., F. Haesebrouck, R. N. Zadoks, M. Vaneechoutte, S. Piepers, and S. De Vliegher. 2011. Some coagulase-negative Staphylococcus species affect udder health more than others. J. Dairy Sci. 94:2329-2340.
- Vanderhaeghen, W., S. Piepers, F. Leroy, E. Van Coillie, F. Haesebrouck, and S. De Vliegher. 2015. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase-negative staphylococci associated with ruminants. Vet. J. 203:44-51.

EL MICROBIOMA BOVINO Y SU RELACIÓN CON LA SALUD

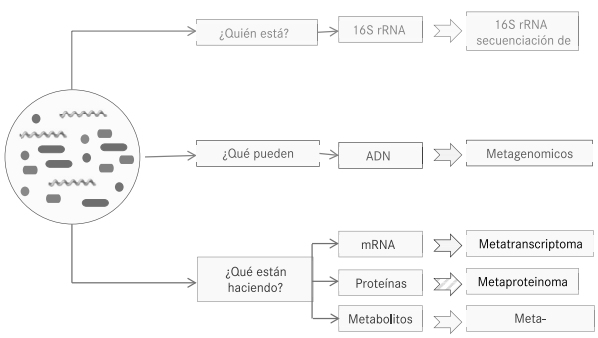
Rodrigo Bicalho, Marcela Bicalho, y Svetlana Lima

Universidad de Cornell

Investigación del microbioma

Desde el descubrimiento y la elucidación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y su estructura en los años 1950 por Watson y sus colegas (Watson y Crick *et al.*, 1953, Feughelman *et al.*, 1955, Wilkins *et al.*, 1956) se han desarrollado estrategias y múltiples innovaciones tecnológicas para comprender mejor la complejidad y la diversidad de los genomas en una gran variedad de ecosistemas, incluidos los de la salud y la enfermedad. El término metagenoma fue descrito por primera vez por Jo Handelsman en 1998 como "los genomas de la microbiota total encontrados en la naturaleza" (Handelsman *et al.*, 1998). Más recientemente, con el desarrollo y la aplicación de métodos de secuenciación de alto rendimiento en combinación con el creciente reconocimiento de la importancia de la comunidad microbiana, se creó el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de científicos del gobierno de EE.UU. en el año 2015 (Stulberg *et al.*, 2016). Los científicos del gobierno de los EE.UU. definieron un microbioma como "una comunidad de múltiples especies de microorganismos en un entorno específico (es decir, host, hábitat o ecosistema)" y la investigación del microbioma como "aquellos estudios que ponen el énfasis en los análisis a nivel de la comunidad con datos derivados de tecnologías habilitadas para el genoma" (Stulberg *et al.*, 2016).

Figura 1.1: Los enfoques actuales disponibles para una investigación del microbioma (adaptado de Addis *et al.*, 2016).



LA SECUENCIACIÓN DEL ADN

Los avances tecnológicos y los enfoques actuales

Las tecnologías de secuenciación del ADN están contribuyendo enormemente a la ampliación de conocimientos sobre los microbiomas en la actual capacidad de secuenciar millones de bases, así como la capacidad de secuenciar y ensamblar genomas enteros (Metzker, 2010, Goodwin *et al.*, 2016, Heather y Chain, 2016). La primera tecnología de secuenciación de Sanger se lanzó en 1977 por Frederick Sanger (Sanger *et al.*, 1977) y fue ampliamente utilizado durante aproximadamente 25 años hasta su sustitución por la segunda y tercera generación de métodos de secuenciación (Di Bella *et al.*, 2013). La tecnología Sanger de secuenciación del ADN, también conocida habitualmente como el método de terminación de cadena, se basa en la "selectiva incorporación de didesoxinulceotidos de final de cadena por la ADN-polimerasa durante la replicación del ADN in vitro" (Sanger *et al.*, 1977; Zhou y Li X. Y., 2015). En los procedimientos de laboratorio para la construcción de la biblioteca de clones, el ADN aislado se "fragmenta" y clona en un vector para la amplificación del ADN en células bacterianas, resultando en millones de colonias bacterianas individuales producidos a partir de una única muestra. Entonces, el ADN de los clones se aísla individualmente, seguida por la reacción de la secuenciación (Hoy, 2013). Aunque la tecnología de Sanger abrió nuevos caminos en la investigación del genoma, todavía tiene limitaciones en cuanto al número de muestras que pueden ser procesados y analizados, así como el alto costo por base de secuencia.

La secuenciación masivamente paralela complementada por la secuenciación por síntesis representa un enfoque avanzado de la segunda generación de secuenciación (p. ej. 454 pyrosequencing, Illumina sequencing technologies: Hiseq y Miseq). Este enfoque está disponible comercialmente desde 2005 (Di Bella *et al.*, 2013) y se vio favorecida por su menor costo y su alto rendimiento (Loman *et al.*, 2012). Aunque difieren en sus estructuras de ingeniería, así como en la secuenciación química, la próxima generación de plataformas de secuenciación comparten el enfoque de la secuenciación masivamente paralelo e incluyen el código de barras y la multiplexación de las muestras (Di Bella *et al.*, 2013), reflejando el bajo costo y la eficiencia en la descodificación de los genomas bacterianos en horas o días en lugar de meses o años.

Con el aumento del uso y la alta demanda de mejoras tecnológicas, se desarrolló una nueva tecnología recientemente que se describe como la secuenciación de tercera generación. Este enfoque introdujo una notable innovación en este campo y ya no requiere el paso previo de la amplificación del ADN para la secuenciación, lo cual resulta en un enfoque más eficiente, evitando así posibles sesgos y errores generados durante el procedimiento de amplificación, y reduciendo el tiempo de mano de obra en comparación con la segunda generación (Liu *et al.*, 2012). Están disponible actualmente dos tecnologías, la secuenciación a tiempo real de una única molécula de ADN que se basa en la fluorescencia, y la secuenciación de nanoporos, que se basa en la corriente eléctrica (Liu *et al.*, 2012). Ambas tecnologías tienen la capacidad de captar la señal de datos en tiempo real, "durante la reacción enzimática al añadir el nucleótido en la cadena complementaria" (Liu *et al.*, 2012).

En conjunción con la tecnología de secuenciación, también hay disponibles una amplia gama de enfoques moleculares para la caracterización taxonómica detallada de las comunidades microbianas, así como su potencial funcional y productos metabólicos (Di Bella *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). Esencialmente, la estrategia molecular aplicada al estudio de la heterogeneidad del conjunto de genomas microbianos se basa en la hipótesis experimental y objetivo de la investigación (Figura 1) (Addis *et al.*, 2016). Hay tres enfoques basados en la tecnología de secuenciación disponibles actualmente: el secuenciación de amplicones que proporciona acceso a la comunidad basada en un gen diana; la metagenómica, en el cual todo el contenido de ADN de una muestra es secuenciado; y la metatranscriptoma en el cual todo el contenido de una muestra es secuenciado (Di Bella *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). Más allá de los enfoques moleculares que se basan en tecnología

de secuenciación, ahora están disponibles la metaproteinoma, que permite la caracterización de toda la proteína microbiana, así como la metabolómica, que ayuda a caracterizar la totalidad del metabolito (Addis *et al.*, 2016). Para los estudios metaproteomicos, se utiliza la separación de cromatografía líquida con espectrometría de masas de alta resolución, y en el caso de los metabolómicos, se usa la separación de cromatografía de líquidos y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones (Addis *et al.*, 2016).

El enfoque de la secuenciación del gen 16S rRNA y de amplicónes

El ribosoma, una "máquina molecular" especializada y compleja, es una estructura muy conservada entre las tres esferas de la vida. Un ribosoma consta de varias proteínas, así como las moléculas de ARN, y es esencial para la biosíntesis de proteínas. En las células procarióticas, la estructura del ribosoma tiene las propiedades de sedimentación de partículas 70S, pero cuando no participen activamente en la síntesis de proteína, el 70S se disocia en partículas 50S y 30S (Pace *et al.*, 1973). Los ribosomas bacterianos se compone de tres moléculas de ARN, el 23S y 5S rRNAs derivada de la subunidad 50S y los 16S rRNA que se deriva de la subunidad ribosomal 30S (Pace *et al.*, 1973). Mientras los ribosomas de organismos bacterianos evolucionaron y, por consiguiente, se diferenciaron en su estructura detallada, se ha mantenido la homología funcional a través de los miembros del dominio Bacteriana (Pace *et al.*, 1973), lo que les permite ser utilizados para el estudio de la taxonomía y la filogenia bacteriana (Woese *et al.*, 1987).

En la secuenciación de amplicones, se selecciona y amplifica un gen en particular, y posteriormente se secuencia para buscar sus perfiles taxonómica. Para este enfoque, la secuenciación de un gen marcador evolutivamente estable, tales como los genes rRNA, suele utilizarse como un objetivo (Rajendhran y Gunasekaran *et al.*, 2011). El 16S rRNA parece ser el gen mayormente conservado de entre los tres genes rRNA procariotas (Woese *et al.*, 1987), debido a su impacto sobre las tasas de fidelidad de traducción (alta precisión de la secuencias mRNA traducidas a secuencias de proteínas) (Moore *et al.*, 2011). Generalmente, si los similitud de los niveles de secuenciación del ADN genómico entre especies bacterianas es del 70% o mayor, éstas tendrían una identidad del más del 97% de la secuencia del gen 16S rRNA (Stackebrandt y Goebel *et al.*, 1994). Además, dado el potencial del gen 16S rRNA para determinar las características filogenéticas y la "posición" de los procariotas, es, de hecho, el marcador genético utilizado más comúnmente para la taxonomía bacteriana y ha guiado la reconstrucción del árbol de la vida (Woese *et al.*, 1987, Hug *et al.*, 2016).

La longitud total del gen marcador 16S rRNA es de aproximadamente 1500 pares de bases y se compone de nueve regiones hipervariables (V1-V9), que van desde aproximadamente 30-100 pares de bases (Gray *et al.*, 1984). Estas regiones hipervariables están flanqueadas por regiones conservadas permitiendo la discriminación efectiva entre taxones bacterianos (Clarridge *et al.*, 2004, Chakravorty *et al.*, 2007) y el diseño de los cebadores universales para la amplificación del PCR (Caporaso *et al.*, 2011, Apprill *et al.*, 2015, Yang *et al.*, 2016). La secuenciación completa del gen 16S RARN en un estudio de la comunidad microbiana está limitada por el costo y la tecnología de secuenciación (Yang *et al.*, 2016), pues el uso de las regiones hipervariables para el análisis filogenético y la clasificación taxonómica ha sido el enfoque utilizado por muchos grupos de investigación en sus estudios del microbioma (Gill *et al.*, 2006; Dominguez-Bello *et al.*, 2010, Boutin *et al.*, 2015, Lau *et al.*, 2016, Ziegler *et al.*, 2017), incluyendo investigadores del microbioma que se centran en las ciencias clínicas (Hansen y Bedard *et al.*, 2013, Sherry *et al.*, 2013, Park *et al.*, 2016) y la prevención (Deurenberg *et al.*, 2017).

Análisis primario de laboratorio y su impacto sobre el perfilado microbiano

El desarrollo rápido de los métodos de secuenciación está mejorando nuestra capacidad para entender y definir los microbiomas y están mostrando su potencial como una herramienta de diagnóstico. Para dicha tecnología, es crucial el aislamiento efectivo del ADN genómico de la heterogeneidad de los miembros de diferentes hábitats microbianos para conseguir un perfilado taxonómica precisa. Los miembros del dominio bacteriano tienen distintos estilos de vida (por ejemplo, intracelular y extracelular, anaerobios, aerobios), la capacidad de generar células especializadas (por ejemplo, los endoesporas), y la morfología de la pared celular (por ejemplo, bacterias gram-positivas, gram-negativas, falta de pared celular) y, por tanto, se necesita un método de extracción de ADN que puede efectivamente romper las diversas células microbianas sin producir un daño generalizado de sus genomas (Bolsa *et al.*, 2016). Por ejemplo, un tratamiento riguroso durante la extracción de ADN podría afectar a la calidad del ADN, mientras que un tratamiento suave puede causar roturas parciales particularmente de bacterias gram-positivas que componen una capa más gruesa de peptidoglicano (Bolsa *et al.*, 2016).

La optimización de la rotura celular para aplicaciones de vanguardia finales, tales como la secuenciación de ADN de nueva generación, ha sido objeto de varios estudios (Koskinen *et al.*, 2009, Quigley *et al.*, 2012, Bag *et al.*, 2016). Por ejemplo, recientemente el proyecto International Human Mircrobiome Strandards (IHMS) ha diseñado unas pautas para los procedimientos operativos estándar para optimizar los métodos de extracción de ADN y la calidad de los datos de muestras fecales humanas (http://www.microbiome-standards.org). La necesidad de métodos, referencias y protocolos estándar también fue un tema de debate en el informe del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de los EEUU, en la que se proponía que "resolver las diferencias en los sesgos metodológicos para la secuenciación permitiría comparaciones reales entre estudios" y mejoraría la fiabilidad de los datos del microbioma (Stulberg *et al.*, 2016).

Los estudios también han evaluado los métodos de extracción del ADN a partir de muestras de leche (Cremonesi *et al.*, 2006; Quigley *et al.*, 2012) debido a su gran importancia para la industria láctea y a la salud humana y animal. Los típicos componentes nutritivos, como las grasas, las proteínas y el calcio del fluido biológico de la leche son inhibidores de la PCR y puede comprometer la amplificación del ADN (Wilson *et al.*, 1997). Experimentos anteriores se centraron en la mejora del aislamiento del ADN de la leche cruda y de la leche para queso (Quigley *et al.*, 2012), así como de leche esterilizada inoculada con bacterias gram-positivas (p. ej. Staphylococcus spp.) (Cremonesi *et al.*, 2006). Sin embargo, las muestras de leche de los casos clínicos de infecciones de la glándula intramamaria (mastitis) encuentran factores de inhibición de la PCR adicionales, tales como restos de bacterias y de células de mamíferos (Wilson *et al.*, 1997), y las muestras de leche de casos no-clínicos suelen tener pocas bacterias (Zadoks *et al.*, 2014); entonces, la recuperación del ADN bacteriano a partir de estas muestras podría ser más complicado.

Una práctica de laboratorio común es aislar el ADN genómico de una pastilla de leche (Rasolofo *et al.*, 2010, Quigley *et al.*, 2012, Quigley *et al.*, 2013), sin embargo esto puede ser un problema en lo relacionado con el aislamiento preciso del ADN metagenomico debido a la capacidad de algunas especies bacterianas de unirse a glóbulos de grasa láctea y/o a la membrana de glóbulos de grasa láctea (Ali-Vehmas *et al.*, 1997, Batt. y Tortorello *et al.*, 2014). Hasta ahora no se ha hecho ningún intento de identificar un método preciso y adecuado para la extracción de ADN metagenomico de casos no-clínicas y clínicas de mastitis.

INTERACCION HUESPED-MICROBIOMA DESDE LA PERSPECTIVA DE LA SECUENCIACIÓN DE PRÓXIMA GENERACION

El microbioma y la salud de su huésped

La creciente evidencia sobre el microbioma y su impacto en la salud del huésped y en las funciones metabólicas ha sido generada por la secuenciación de nueva generación en los últimos años. Sorprendentemente, el microbioma es ahora conocido como el "nuevo biomarcador" de la salud (Shukla *et al.*, 2017), principalmente debido a su papel en el mantenimiento de la fisiología del huésped (Sommer y Bäckhed *et al.*, 2013, Barrett y Wu *et al.*, 2017), en la maduración y la "educación" del sistema inmunológico (Kelly *et al.*, 2007, Chung *et al.*, 2012) y su potencial para mediar en el desarrollo metabólico del huésped (Cho *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2014). Como la coevolución de los mamíferos y su microbiota ha ocurrido durante millones de años (Ley *et al.*, 2008) no es sorprendente que exista esta estrecha conexión entre el huésped y la microbiota.

En la medicina veterinaria, la simbiosis entre el huésped rumiante y las poblaciones microbianas es esencial para la existencia y supervivencia de los animales, principalmente debido a la conversión de plantas y grano, consumido por el huésped, en recursos energéticos disponibles que posteriormente son absorbidos y metabolizados por el huésped (Hungate *et al.*, 1966). Dada su complejidad y su importancia para la existencia de los rumiantes, la microbiota del tracto gastrointestinal bovina ha sido ampliamente investigado (Khafipour *et al.*, 2009, Jami y Mizrahi, 2012, Jami *et al.*, 2013, Meale *et al.*, 2016, Dill-McFarland *et al.*, 2017). Sin embargo, cada vez es más evidente que las comunidades microbianas en otros lugares anatómicos, como la glándula mamaria (Oikonomou *et al.*, 2012, Oikonomou *et al.*, 2014, Addis *et al.*, 2016) y las vías respiratorias (Holman *et al.*, 2017), también son relevantes para la salud bovina.

El microbioma del calostro bovino

Hasta muy recientemente, se creía que la glándula mamaria así como sus fluidos biológicos eran estériles (Tolle *et al.*, 1980) y se pensaba que la detección de microorganismos bacterianos era debido a la contaminación externa del medio ambiente, la piel de la vaca o la cavidad oral de la progenie (Addis *et al.*, 2016). Más actualmente, Martin *et al.* (2003) encontraron que las especies bacterianas aisladas de la glándula mamaria tenía un genotipo distinto de las observadas en los hábitat de la piel de la mama del mismo individuo (Martín *et al.*, 2003). También se ha propuesto y descrito la existencia de un "camino entero-mamaria" como una ruta endógena que permite a los organismos bacterianos presentes en el lumen intestinal llegar a la glándula mamaria viajando a través de los ganglios linfáticos mesentéricos (Boehm y Stahl *et al.*, 2007, Fernández *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). Estas ideas apoyan la confiabilidad de encontrar una microbiota indígena en los fluidos biológicos del calostro y de la leche que no es fruto meramente de la contaminación externa.

Un análisis exhaustivo de los cambios temporales del microbioma de la leche humana fue realizada recientemente por Cabrera-Rubio *et al* (2010), y se estudió la comunidad microbiana de las muestras de calostro y leche desde el primer y sexto mes después del parto (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012). Se encontró que el calostro albergaba un microbiota diversa que era diferente de la que se observó en las muestras de leche, y que los géneros detectados con mayor frecuencia eran bacterias como la Weisella, Leuconostoc, Estafilococos, Estreptococos y Lactococcus (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012). Hasta la fecha, sólo un estudio ha explorado la comunidad microbiana del calostro bovino (Lindner *et al.*, 2011). El experimento de Lindner *et al* (2011) encontró 29 cepas bacterianas en muestras del calostro bovino, incluyendo Lactococcus casei, Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus chromogenes, Bifidobacterium pseudolongum y Propionibacterium acnes (Lindner *et al.*, 2011). Sin embargo, en el presente estudio tiene límites al describir toda la comunidad bacteriana del calostro debido al análisis molecular utilizado. Aquí, los genes 16S rRNA fueron generados a partir de ADN extraído de aislados bacterianos del calostro y no de muestras de calostro reales.

La inflamación del parénquima de la glándula mamaria, conocido como mastitis bovina, es una enorme carga económica para la industria de productos lácteos en todo el mundo y principalmente es desencadenada por una infección bacteriana (Federation, 1987, Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). La estimación del costo por cada caso de mastitis clínica que se produce en los primeros 30 días después del parto es de aproximadamente $444 (Rollin *et al.*, 2015). El calostro es la primera leche producida por las vacas lecheras y, en el caso de las vacas multíparas suele ocurrir después de un período de no-lactancia llamado el período seco, que es un período importante para la sustitución de las células epiteliales mamarias senescentes y los elementos producidos por esas células (Capuco *et al.*, 1997). Varios estudios han demostrado que existe una correlación entre un aumento del riesgo de infecciones de la glándula mamaria posparto con los casos de infecciones mamarias en período seco (Aarestrup y Jensen *et al.*, 1997; Green *et al.*, 2002, Bradley y Green, 2004). Además, debido al alto número de infecciones intra-mamarias tanto en el período seco y a principios del período fresco (Natzke *et al.*, 1981), se ha propuesto la necesidad de nuevos procedimientos de intervención durante estos períodos para mejorar la salud de la ubre y la producción de leche (Natzke *et al.*, 1981).

A pesar de la mencionada cuestión, hasta ahora no se ha abordado la cuestión de si el microbioma del calostro bovino puede explicar los cambios de la composición microbiana de la glándula intra-mamaria que influyen en la salud o la enfermedad durante la lactancia. Además, la identificación de perfiles bacterianos del calostro como una herramienta para el diagnóstico de la mastitis o su prevención permanece inexplorada.

El microbioma del tracto respiratorio bovino

La parte superior del tracto respiratorio (URT) aloja a una comunidad microbiana compleja (Margolis *et al.*, 2010) que se compone de microorganismos comensales y también por posibles agentes patógenos. Sin embargo, nunca se ha definido con claridad la composición específica del microbioma del URT de los bovinos. La mayoría de los estudios de la microflora de la URT hasta la fecha se basaban en cultivos o estudios PCR dirigidas a algunos grupos de bacterias y, por tanto, están incompletas y potencialmente sesgadas (Allen, 1991, Allen *et al.*, 1992, Arcangioli *et al.*, 2012). Los

desequilibrios del ecosistema URT en los seres humanos puede resultar en un sobrecrecimiento de y la invasión de patógenos bacterianos, provocando enfermedades invasivas o respiratorias, especialmente en los niños con sistemas inmunológicos inmaduros (Bosch *et al.*, 2013). Análogamente, dada la alta incidencia de la enfermedad respiratoria bovina (ERB) en el ganado lechero (USDA, 2002, 2007) y en el ganado vacuno (Griffin *et al.*, 2010), los desequilibrios microbianos en el microbioma de la URT, especialmente durante las primeras semanas de vida, puede potencialmente conducir a infecciones respiratorias. Además, la conexión anatómica entre el nasofaringe y el tracto respiratorio inferior y el oído medio se ha mostrado como una posible ruta migratoria de los agentes patógenos hacía el tracto respiratorio inferior y del oído medio (Murphy *et al.*, 2009). Hasta la fecha, solamente unos pocos estudios se han dedicado a la caracterización del microbioma de la URT (Holman *et al.*, 2015a, Holman *et al.*, 2015b, Timsit *et al.*, 2016, Holman *et al.*, 2017).

El microbioma de la URT en bovinos fue descrito por primera vez por Holman *et al.* (2015). En este estudio, la comunidad bacteriana de la nasofaringe en10 vacas de cebadero fue evaluado el día en que entraron en los corrales de engorde y también ≥ 60 días después (Holman *et al.*, 2015a). Los más abundantes filos detectados en la nasofaringe fueron proteobacterias y Firmicutes, y las familias más abundantes fueron Pseudomonadaceae, Moraxllaceae, Enterococcaceae, Lachnospiraceae y Alteromonadaceae. También se constató que la comunidad bacteriana nasofaríngea en bovinos es relativamente inestable durante los primeros 60 días en el corral de engorde. Las familias bacterianas como los Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae Oxalobacteraceae eran relativamente más abundantes en el día de la entrada a los corrales de engorde y las familias de Micrococcaceae y Pseudomonadaceae eran relativamente más abundantes en el momento del muestreo ≥ 60 días después de la entrada en los corrales de engorde (Holman *et al.*, 2015a).

En un estudio recientemente publicado por el mismo grupo, se estudió el microbiota nasofaríngeo en novillas de carne (n=14) de un rebaño cerrado y libre de enfermedades antes y después de ser trasladados a los corrales de engorde (Holman *et al.*, 2017) y también se constataron cambios a lo largo del tiempo en la comunidad bacteriana de la nasofaringe. Se tomaron muestras antes del transporte, en el día en que llegaron a los corrales de engorde, y tres muestras después de la estancia en los corrales de engorde a los 2, 7 y 14 días. El hábitat de la nasofaringe bovina albergaba un microbiota básico compuesto de 52 unidades taxonómicas operativas (OTUs) entre todos los puntos de tiempo evaluados. El Mycoplasma, Psychrobacter, Amnibacterium, así como Acinetobacter fueron los más abundantes géneros detectados en el núcleo del microbioma nasofaríngeo en las novillas de carne (Holman *et al.*, 2017).

En cuanto al efecto del microbioma sobre salud animal, Holman *et al.* (2015a) constató que la nasofaringe de los animales diagnosticados con BRD presentaba un microbiota menos diverso y un menor número de OTUs de lo que se observó en los animales que permanecieron saludables durante su tiempo en los corrales de engorde. Además, las familias de Lactobacillaceae y Bacillaceae eran más abundantes en el día 0 en el ganado que permanecía saludable en comparación con los animales diagnosticados con BRD tras acceder a los corrales de engorde (Holman *et al.*, 2015a). Los autores no observaron ningún perfil bacteriano asociado con el BRD, un hallazgo que podría explicarse por los puntos temporales utilizados para evaluar las asociaciones enfermedad-microbiota. Los animales diagnosticados con BRD fueron tratadas con antibióticos dos o más meses antes de la última colección de muestras (≥ 60 días), con lo que el microbiota detectado en la nasofaringe en el momento del muestreo ≥ 60 tras la entrada en los corrales de engorde no es una representación precisa de un "microbiota enfermo" y podría explicar el mencionado hallazgo de ningún perfil bacteriano asociado con la BRD.

A pesar de los notables avances en el desciframiento del complejo microbioma del tracto respiratorio bovino, la estructura taxonómica de la URT y su evolución temporal desde el nacimiento, todavía está sin explorar. Hasta el momento, no se ha abordado adecuadamente la cuestión de la existencia de un patrón microbiano de la URT asociado con BRD y otitis del oído medio, específicamente durante el período inicial y crítica de la vida.

ORIGEN DEL MICROBIOMA HUESPED

EL efecto del microbioma materno sobre la colonización microbiana inicial de la descendencia

Se ha constatado que la colonización microbiana en los primeros momentos de la vida desempeña un papel en la maduración del sistema inmune neonatal (Kelly *et al.*, 2007, Chung *et al.*, 2012) y en su desarrollo metabólico (Cho *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2014). La primera exposición a los microbios podría ocurrir durante el desarrollo fetal (Romano-Keeler y Weitkamp *et al.*, 2015) debido a la contaminación del líquido amniótico por infecciones intrauterinas de las mujeres embarazadas (Goldenberg *et al.*, 2000). Más recientemente, en un estudio realizado por Aagaard *et al.* (2014) se detectó la presencia de un microbioma singular en la placenta de mujeres sanas, en la cual una microbiota comensal no-patógena resultó pertenecer a este hábitat, lo que indica que también podría darse la transmisión materna de los microorganismos al feto en un embarazo saludable. Además, Goldenberg *et al.* (2000) demostraron la existencia de tejido chorioamniotico con cultivo positivo de casos de parto pretérminos que presentaban membranas intactas, que también apoya la transferencia bacteriana materna a través de la placenta (Goldenberg *et al.*, 2000).

Más allá de las posibilidad de la ruta placenta-feto de transmisión bacteriana, los estudios han revelado la existencia de influencias adicionales sobre la microbiota adquirida por los recién nacidos. Utilizando una cohorte de madres y recién nacidos coincidentes, Dominguez-Bello *et al.* (2010) halló que los bebés nacidos por cesárea albergaban una microbiota similar a la observado en la superficie de la piel materna, mientras que los bebés que nacen por vía vaginal adquirieren una microbiota semejante a la de las comunidades bacterianas vaginales de sus madres (Dominguez-Bello *et al.*, 2010). El modo del parto, más específicamente la cesárea, también ha sido asociado con un riesgo mayor de varias enfermedades autoinmunes, lo que se atribuyó a la interrupción de la transmisión microbiana madre-neonato (Mueller *et al.*, 2015a). La interrupción del intercambio microbiano por cesárea ha llevado, por ejemplo, a un mayor riesgo de obesidad en la niñez (Huh *et al.*, 2012, Mueller *et al.*, 2015b) y asma (Metsälä *et al.*, 2015, Mueller *et al.*, 2015b).

Después del nacimiento, la microbiota materno sigue influyendo en la microbiota del neonato a través de la lactancia materna (Mueller *et al.*, 2015a). Los estudios han demostrado la existencia de una comunidad microbiana diversa en la leche materna (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012, Jeurink *et al.*, 2013) y se encontraron bacterias como la Bifidobacterium y Lactobacillus spp. formando parte de la microbiota de la leche materna y

que eran transferidos a los neonatos (Martín *et al.*, 2007, Solís *et al.*, 2010). Además, Kubinak y Round (2016) estudiaron recientemente sobre la importancia de los anticuerpos maternos que se pasan en la leche a la progenie y cómo influyen en la composición de la microbiota intestinal de la progenie (Kubinak y Round, 2016). Se propuso que el sistema inmunológico adaptativo no sólo influye en la aptitud microbiana, promocionando la diversidad microbiana y ayudando a la simbiosis, sino que también funciona para reducir la expresión de epítopes de comensales potencialmente perjudiciales y prevenir su difusión letal controlando las comunidades asociadas a las mucosas (Kubinak y Round, 2016).

En medicina veterinaria, el origen de la comunidad microbiana temprana en terneros neonatos y la compleja dinámica de su transmisión y de su colonización de lugares específicos en el neonato permanecen inexplorados.

ENGLISH VERSION

The bovine microbiome and health associations

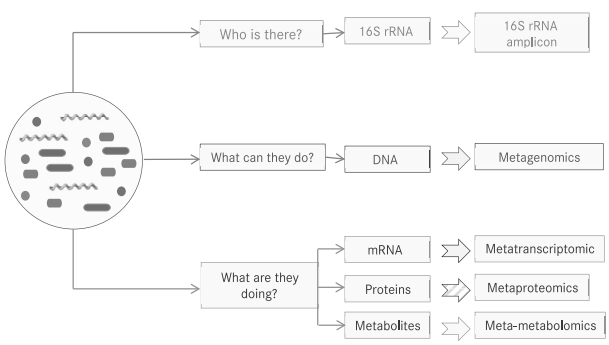
Rodrigo Bicalho, Marcela Bicalho, and Svetlana Lima

Cornell University

Microbiome research

Since the discovery and elucidation of deoxyribonucleic acid (DNA) and its structure in the 1950s by Watson and colleagues (Watson and Crick *et al.*, 1953, Feughelman *et al.*, 1955, Wilkins *et al.*, 1956) strategies and multiple technological innovations have been made in efforts to better understand the complexity and diversity of genomes in a variety of ecosystems, including those in the health and disease. The term metagenome was first described by Jo Handelsman in 1998 as "the genomes of the total microbiota found in nature" (Handelsman *et al.*, 1998). More recently, with the development and application of high throughput sequencing methods in combination with the growing recognition of the importance of the microbial community a National Science and Technology Council Committee of US government scientists was created in 2015 (Stulberg *et al.*, 2016). The US government scientists defined microbiome as "a multi-species community of microorganisms in a specific environment (that is, host, habitat or ecosystem)" and microbiome research as "those studies that emphasize community-level analyses with data derived from genome-enabled technologies" (Stulberg *et al.*, 2016).

Figure 1.1: The current available approaches for microbiome research (adapted from Addis *et al.*, 2016).



DNA SEQUENCING

Technology advances and current approaches

DNA-sequencing based technologies are vastly contributing to the expanding knowledge on microbiomes in the current ability to sequence millions of bases as well as the ability to sequence and assemble whole genomes (Metzker, 2010, Goodwin *et al.*, 2016, Heather and Chain, 2016). The primordial Sanger sequencing technology was launched in 1977 by Frederick Sanger (Sanger *et al.*, 1977) and was widely used for approximately 25 years until its replacement by second and third-generation sequencing methods (Di Bella *et al.*, 2013). Sanger DNA sequencing technology, also commonly described as the chain termination method, is based on "selectively incorporation of chain-terminating dideoxynulceotides by the DNA polymerase during the in vitro DNA replication" (Sanger *et al.*, 1977, Zhou X. and Li Y., 2015). In the laboratory procedures for clone library construction, the isolated DNA is "fragmented" and cloned into a vector for DNA amplification in bacterial cells, resulting in millions of individual bacterial colonies produced from one unique sample. The DNA from the clones is then individually isolated, followed by the sequencing reaction (Hoy, 2013). Although, the Sanger technology opened new avenues in genome research, it is still restricted in terms of the number of samples that are able to be processed and analyzed as well as the high cost per base of sequence.

The massively parallel sequencing complemented by the sequencing-by-synthesis design represents a state-of-the-art approach of the second-generation sequencing (e.g. 454 pyrosequencing, Illumina sequencing technologies: Hiseq and Miseq). This approach has been commercially available since 2005 (Di Bella *et al.*, 2013) and was favored due to its reduced cost and high throughput (Loman *et al.*, 2012). While differing in engineering structures as well as in sequencing chemistry, the next-generation sequencing platforms share the massive parallel sequencing approach and include barcoding and multiplexing of the samples (Di Bella *et al.*, 2013), reflecting its low cost and efficiency in decoding bacterial genomes in hours or days instead of months or years.

With the increased use and high demand for technological improvement, a new technology was recently developed and described as the third-generation sequencing. This approach brought remarkable innovation to the field and no longer requires the DNA amplification step prior to sequencing, leading to a more efficient approach, avoiding potential bias and error generated during the amplification procedure, and reduced labor time compared to that typically encountered in the second-generation approach (Liu *et al.*, 2012). Two technologies are currently available, the single-molecule real-time analysis that is based on fluorescence and, the Nanopore sequencing that is based on electric current (Liu *et al.*, 2012). Both technologies have the ability to capture the data signal in real-time, "during the enzymatic reaction of adding nucleotide in the complementary strand" (Liu *et al.*, 2012).

In conjunction with sequencing-technology, a wide rage of molecular approaches is also available for the detailed taxonomic characterization of microbial communities, as well as their functional potential and metabolic products (Di Bella *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). Essentially, the molecular strategy applied to the study of the heterogeneous set of microbial genomes is based on the experimental hypothesis and research goal (Figure 1) (Addis *et al.*, 2016). Three approaches based on sequencing technology are currently available: the amplicon sequencing that provides access to the community based on a

target gene; metagenomics, in which the entire DNA content of a sample is sequenced; and metatranscriptomics in which the entire mRNA content of a sample is sequenced (Di Bella *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). Beyond the molecular approaches that rely on sequencing technology, metaproteomics, which allows characterization of the entire microbial protein complement, as well as metabolomics, which helps characterize the entire metabolite complement, are now available (Addis *et al.*, 2016). For metaproteomic studies, liquid chromatography separation with high-resolution mass spectrometry are used, and for metabolomics liquid chromatography separation system and proton nuclear magnetic resonance spectroscopy are typically used (Addis *et al.*, 2016).

16S rRNA gene & amplicon sequencing approach

The ribosome, a specialized and complex "molecular machine", is a highly conserved structure among all three domains of life. A ribosome consists of several proteins as well as RNA molecules, and is essential for protein biosynthesis. In prokaryotic cells, the ribosome structure has the sedimentation properties of 70S particles, but when not actively engaged in protein systhesis, the 70S dissociates into the 50S and 30S particles (Pace *et al.*, 1973). The bacterial ribosome comprises of three distinct RNA molecules, the 23S and 5S rRNAs derived from the 50S subunit, and the 16S rRNA that is derived from the 30S ribosomal subunit (Pace *et al.*, 1973). While the ribosome of bacterial organisms evolved and consequently differentiated in their detailed structure, functional homology has been retained across members of the Bacteria domain (Pace *et al.*, 1973), thus allowing it to be used to study bacterial phylogeny and taxonomy (Woese *et al.*, 1987).

In amplicon sequencing a particular gene is selected, amplified and subsequently sequenced for taxonomic profiling. For such approach, sequencing of an evolutionarily stable marker gene, such as the rRNA genes, is usually used as a target (Rajendhran and Gunasekaran *et al.*, 2011). The 16S rRNA seems to be the most conserved gene among the three rRNA genes of prokaryotes (Woese *et al.*, 1987), due to its impact on the translation fidelity rates (high accuracy of the mRNA sequences being translated into protein sequences) (Moore *et al.*, 2011). Usually if the levels of genomic DNA sequence similarity between bacterial species are 70% or greater, they would have more than 97% 16S rRNA gene sequence identity (Stackebrandt and Goebel *et al.*, 1994). Furthermore, given the potential of the 16S rRNA gene to determine the phylogenetic characteristics and "position" of the prokaryotes, it is, in fact, the housekeeping genetic marker most commonly used for bacterial taxonomy and has guided the reconstruction of the tree of life (Woese *et al.*, 1987, Hug *et al.*, 2016).

The full length of the 16S rRNA marker gene is approximately 1500 base pairs and consists of nine hypervariable regions (V1-V9) ranging from about 30-100 base pairs (Gray *et al.*, 1984). These hypervariable regions are flanked by conserved regions allowing effective discrimination between bacterial taxa (Clarridge *et al.*, 2004, Chakravorty *et al.*, 2007) and design of universal primers for PCR amplification (Caporaso *et al.*, 2011, Apprill *et al.*, 2015, Yang *et al.*, 2016). Sequencing the full 16S rRNA gene during a microbial community survey, is limited by the sequencing technology and cost (Yang *et al.*, 2016), thus the use of the hypervariable regions for phylogenetic analysis and taxonomic classification has been the approach used by many research groups in microbiome studies (Gill *et al.*, 2006, Dominguez-Bello *et al.*, 2010, Boutin *et al.*, 2015, Lau *et al.*, 2016, Ziegler *et al.*, 2017), including microbiome researchers that focus on clinical science (Hansen and Bedard *et al.*, 2013, Sherry *et al.*, 2013, Park *et al.*, 2016) and prevention (Deurenberg *et al.*, 2017).

Upstream laboratory analysis and its impact on microbial profiling

Rapidly developing sequencing methods are enhancing our ability to understand and define microbiomes and are showing their promise as an applicable diagnostic tool. For such technology, efficient isolation of the genomic DNA from the heterogeneous microbial members of different habitats is crucial for an accurate taxonomic profiling. Members of the Bacterial domain have distinct life styles (e.g. intracellular, extracellular, anaerobic, aerobic), ability of making specialized cells (e.g. endospores), and cell wall morphology (e.g. gram-positive, gram-negative, lack of cell wall), thus a DNA extraction method that can effectively lyse the diverse microbial cells without extensively damaging their genomes is required (Bag *et al.*, 2016). For instance, rigorous treatment during DNA extraction could affect DNA quality, while mild treatment may cause partial lysis particularly for gram-positive bacteria that encompass a thicker layer of peptidoglycan (Bag *et al.*, 2016).

Optimization of cell lysis for cutting edge downstream applications, such as next generation DNA sequencing, has been the focus of several studies (Koskinen *et al.*, 2009, Quigley *et al.*, 2012, Bag *et al.*, 2016). For instance, recently the International Human Microbiome Standards (IHMS) project recently designed a guideline for standard operating procedures to optimize community DNA extraction methods and data quality from human fecal samples (http://www.microbiome-standards.org). The need for methods, references and standard protocols was also a theme for discussion in the US National Science and Technology Council Committee report, in which it was proposed that "resolving differences in method biases for sequencing would permit honest comparisons between studies" and would improve the reliability of the microbiome data (Stulberg *et al.*, 2016).

Studies have also been evaluating DNA extraction methods from milk samples (Cremonesi *et al.*, 2006, Quigley *et al.*, 2012) due to their great importance to the dairy industry and to human and animal health. The typical nutrient components, such as fat, proteins and calcium, of milk biological fluid are PCR inhibitors and can compromise DNA amplification (Wilson *et al.*, 1997). Previous experiments focused on improving DNA isolation from raw milk and cheese milk (Quigley *et al.*, 2012) as well as from sterile milk inoculated with gram-positive bacteria (e.g. Staphylococcus spp.) (Cremonesi *et al.*, 2006). However, milk samples from clinical cases of intra-mammary gland infection (mastitis) encounter extra PCR inhibition factors, such as bacterial and mammalian cellular debris (Wilson *et al.*, 1997), and milk samples from non-clinical cases typically have few bacteria (Zadoks *et al.*, 2014), thus recovering bacterial DNA from these samples might be more challenging.

It is common laboratory practice to isolate the genomic DNA from a milk pellet (Rasolofo *et al.*, 2010, Quigley *et al.*, 2012, Quigley *et al.*, 2013), however this can be an issue regarding accurate metagenomic DNA isolation due to the ability of some bacterial species to bind to milk fat globules and/or to the milk fat globule membrane (Ali-Vehmas *et al.*, 1997, Batt. and Tortorello *et al.*, 2014). So far, no attempt has been made to identify an appropriate and accurate method for metagenomic DNA extraction from non-clinical and clinical cases of mastitis.

HOST-MICROBIOME INTERACTION FROM THE NEXT-GENERATION SEQUENCING PERSPECTIVE

Microbiome and its host health

Mounting evidence on the microbiome and its impact on host health and metabolic functions has been generated by next-generation sequencing over the last few years. Remarkably, the microbiome is now referred to as the "new biomarker" of health (Shukla *et al.*, 2017) mainly due to its role in maintaining host physiology (Sommer and Bäckhed *et al.*, 2013, Barrett and Wu *et al.*, 2017), maturation and "education" of the immune system (Kelly *et al.*, 2007, Chung *et al.*, 2012) and its potential to mediate host metabolic development (Cho *et al.*, 2012, Cox *et al.*, 2014). Since coevolution of mammals and their microbiota has occurred over millions of years (Ley *et al.*, 2008) is not a surprise that this tight connection between host and microbiota exists.

In veterinary medicine, symbiosis between ruminant host and microbial populations is essential for animal survival and existence, mainly due to the conversion of plant and grain materials, consumed by the host, into available energy resources that are subsequently absorbed and metabolized by the host (Hungate *et al.*, 1966). Given its complexity and importance to the ruminant existence, the bovine gastrointestinal tract microbiota has been extensively investigated (Khafipour *et al.*, 2009, Jami and Mizrahi, 2012, Jami *et al.*, 2013, Meale *et al.*, 2016, Dill-McFarland *et al.*, 2017). However, it is becoming increasingly apparent that microbial communities in other anatomical sites, such as mammary gland (Oikonomou *et al.*, 2012, Oikonomou *et al.*, 2014, Addis *et al.*, 2016) and airways (Holman *et al.*, 2017), are also relevant for bovine health.

Bovine colostrum microbiome

Until quite recently, the mammary gland as well as its biological fluids were believed to be sterile (Tolle *et al.*, 1980) and the detection of bacterial organisms thought to bea result of external contamination from the environment, cow skin or oral cavity of the progeny (Addis *et al.*, 2016). More currently, Martin *et al.* (2003) found that bacterial species isolated from the mammary gland were genotypically distinct from those observed in the breast skin habitat of the same individual (Martín *et al.*, 2003). The existence of an "entero-mammary pathway" has been also proposed and described as an endogenous route allowing bacterial organisms present in the intestinal lumen to reach the mammary gland by traveling through the mesenteric lymph nodes (Boehm and Stahl *et al.*, 2007, Fernández *et al.*, 2013, Addis *et al.*, 2016). These insights support the trustworthiness of finding an indigenous microbiota in the biological fluids colostrum and milk that is not merely external contamination.

A comprehensive analysis of temporal changes of the human milk microbiome was recently performed by Cabrera-Rubio *et al* (2010), and the microbial community of colostrum and milk samples from the first and sixth months after delivery were assessed (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012). Colostrum was found to harbor a diverse microbiota that were distinct from that observed in milk samples, and bacteria such as Weisella, Leuconostoc, Staphylococcus, Streptococcus, and Lactococcus were the most common genera detected (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012). To date, only one study had explored the microbial community of bovine colostrum (Lindner *et al.*, 2011). The Lindner *et al* (2011) experiment, found 29 bacterial strains in bovine colostrum samples including Lactococcus casei, Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus chromogenes, Bifidobacterium pseudolongum, and Propionibacterium acnes species (Lindner *et al.*, 2011). However, the present study was limited in its accuracy in describing the colostrum whole bacterial community due to the molecular analysis used. Here, the 16S rRNA genes were generated from DNA extracted from colostrum bacterial isolates and not from the actual colostrum samples.

Inflammation of the mammary gland parenchyma, so-called bovine mastitis, is a huge economic burden for the dairy industry worldwide and is mainly triggered by bacterial infection (Federation, 1987, Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). The estimation of the cost per case of clinical mastitis that occurs in the first 30 days after parturition is approximately $444 (Rollin *et al.*, 2015). Colostrum is the first milk produce by dairy cows and in the case of multiparous cows it usually happen after a non-lactating period called dry period, which is an important period for the replacement of senescent mammary epithelial cells and the elements produced by those cells (Capuco *et al.*, 1997). Several studies have shown a correlation between an increased risk of postpartum mammary gland infections with the occurrence of dry period mammary infections (Aarestrup and Jensen *et al.*, 1997, Green *et al.*, 2002, Bradley and Green, 2004). Furthermore, due to the high numbers of intra-mammary infections in both the dry period and the early fresh period (Natzke *et al.*, 1981), the need for new intervention procedures during these periods has been proposed to improve udder health and milk production (Natzke *et al.*, 1981).

Despite the aforementioned issue, until now the question of whether the bovine colostrum microbiome can explain the intra-mammary gland microbial composition shifts toward health or disease along the lactation has not been addressed. Additionally, the identification of colostrum bacterial profiles as a tool for mastitis diagnosis or prevention remains unexplored.

Bovine respiratory tract microbiome

The upper respiratory tract (URT) hosts a complex microbial community (Margolis *et al.*, 2010) that is comprised of commensal microorganisms and also by potential pathogenic agents. However, the specific makeup of the bovine URT microbiome has not been clearly defined. Most studies of URT microflora to date were either culture- or PCR-based surveys that targeted few bacterial groups and, therefore, are incomplete and potentially biased (Allen, 1991, Allen *et al.*, 1992, Arcangioli *et al.*, 2012). Imbalances of the URT ecosystem in humans can result in overgrowth of and invasion by bacterial pathogens, causing respiratory or invasive diseases, especially in children with immature immune systems (Bosch *et al.*, 2013). Analogously, given the high incidence of bovine respiratory disease (BRD) in both dairy (USDA, 2002, 2007) and beef cattle (Griffin *et al.*, 2010), microbial imbalances in the URT microbiome, particularly during the first weeks of life, may potentially lead to respiratory infection. Furthermore, the anatomical connection between the nasophrynx and both the lower respiratory tract and middle ear has been shown as a potential migratory route of pathogenic agents to the lower respiratory tract and middle ear (Murphy *et al.*, 2009). To date, the characterization of the URT microbiome was only carried out by few studies (Holman *et al.*, 2015a, Holman *et al.*, 2015b, Timsit *et al.*, 2016, Holman *et al.*, 2017).

The bovine URT microbiome was firstly described by Holman *et al.* (2015). In this study, the bacterial community of nasopharynx from ten feedlot cattle was assessed at the day of feedlot entry and also ≥ 60 days later (Holman *et al.*, 2015a). The most abundant phyla detected in the nasopharynx were Proteobacteria and Firmicutes, and the most abundant families

were Pseudomonadaceae, Moraxellaceae, Enterococcaceae, Lachnospiraceae, and Alteromonadaceae. It was also found that bovine nasopharyngeal bacterial community is relatively unstable during the first 60 days at feedlot. Bacterial families such as Enterobacteriaceae, Oxalobacteraceae, and Pasteurellaceae were relatively more abundant at the day of feedlot entrance and Micrococcaceae and Pseudomonadaceae families were relatively more abundant at the sampling time point ≥ 60 days after feedlot entrance (Holman *et al.*, 2015a).

In a more recently published study conducted by the same group, nasopharyngeal microbiota of beef heifers (n=14) from a closed and disease-free herd before and after being transported to the feedlot (Holman *et al.*, 2017) were assessed and also indicated temporal changes in the nasopharyngeal bacterial community. Sample were taken prior to the transport, at the day they arrived at the feedlot, and three samples after feedlot placement on days 2, 7, and 14. The bovine nasopharyngeal habitat harbored a core microbiota composed of 52 shared Operational Taxonomic Units (OTUs) among all time points evaluated. Mycoplasma, Psychrobacter, Amnibacterium, as well as Acinetobacter were the most abundant genera detected in the core nasopharyngeal microbiome of the beef heifers (Holman *et al.*, 2017).

In regards to the effect of the microbiome on animal health, Holman *et al.* (2015a) found that the nasopharynx of animals diagnosed with BRD presented a less diverse microbiota and a reduced number of OTUs than that observed in animals that remained healthy during feedlot placement. Additionally, the Lactobacillaceae and Bacillaceae families were more abundant at day 0 in cattle that remained healthy compared to animals diagnosed with BRD after feedlot entrance (Holman *et al.*, 2015a). The authors did not observe any bacterial profile associated with BRD a finding that might be explained by the time points used to evaluate the disease-microbiota associations. Animals were diagnosed with BRD were treated with antibiotic two/or more months prior to the last sample collection (≥ 60 days), thus the microbiota detected in nasopharynx at the sampling time point ≥ 60 after feedlot entrance are not an accurate representation of a "diseased microbiota" and might explain the above-mentioned finding of no bacterial profile associated with BRD.

Despite the noteworthy progress on deciphering the complex bovine respiratory tract microbiome, the URT taxonomic structure and its temporal evolution starting from birth, is still underexplored. Up to the present time, the question the existence of a URT microbial pattern associated with BRD and otitis media specifically during the initial and critical period of life has not been accurately addressed.

HOST MICROBIOME ORIGIN

Maternal microbiome effect on the offspring initial microbial colonization

Early-life microbial colonization has been shown to play a role in the neonatal immune system maturation (Kelly *et al.*, 2007, Chung *et al.*, 2012) and in its metabolic development (Cho *et al.*, 2012, Cox *et al.*, 2014). The first exposure to microbes might happen during fetal development (Romano-Keeler and Weitkamp *et al.*, 2015) due to contamination of the amniotic fluid in intrauterine infection of pregnant women (Goldenberg *et al.*, 2000). More recently, a study performed by Aagaard *et al.* (2014) detected the presence of a unique microbiome in the placenta of healthy women, in which non-pathogenic commensal microbiota showed to be part of this habitat, indicating that maternal transmission of microorganisms to the fetus in healthy pregnancy might also exist. Additionally, Goldenberg *et al.* (2000) demostrated culture-positive chorioamniotic tissue from preterm labor cases presenting intact membranes, which also supports the maternal bacterial transference via placenta (Goldenberg *et al.*, 2000).

Beyond the potential placenta-fetus bacterial transmission route, studies have revealed additional influences on the microbiota acquired by newborns. Using a cohort of maternal-newborn matched subjects, Dominquez-Bello *et al.* (2010) found that babies born by cesarean section (C-section) harbored a microbiota similar to that observed in maternal skin surfaces while babies born vaginally acquired microbiota resembling their mother's vaginal bacterial community (Dominguez-Bello *et al.*, 2010). The mode of delivery, more specifically C-section, has been also associated with an increased risk of several autoimmune diseases, which was attributed to the disruption of mother-newborn microbial transmission (Mueller *et al.*, 2015a). The interruption of the microbial exchange by C-section has been shown, for instance, to increase the risk of childhood obesity (Huh *et al.*, 2012, Mueller *et al.*, 2015b) and asthma (Metsälä *et al.*, 2015, Mueller *et al.*, 2015b).

After birth, the maternal microbiota continues to influence progeny microbiota through breast feeding (Mueller *et al.*, 2015a). Studies have been shown a diverse microbial community in breast milk (Cabrera-Rubio *et al.*, 2012, Jeurink *et al.*, 2013) and bacteria such as Bifidobacterium and Lactobacillus spp., were found to be part of breast milk microbiota and to be transferred to the neonate gut (Martín *et al.*, 2007, Solís *et al.*, 2010). Additionally, Kubinak and Round (2016) recently discussed the importance of the maternal antibodies that are passed in milk to progeny and how they influence composition of the progeny gut microbiota composition (Kubinak and Round, 2016). It was proposed that the adaptive immune system not only influences microbial fitness, promoting microbial diversity and mediating symbiosis, but also functions to reduce the expression of potentially harmful epitopes of commensals and prevent lethal dissemination by controlling mucosa associated communities (Kubinak and Round, 2016).

In veterinary medicine, the origin of the bovine neonatal calf early microbial community and the complex dynamics of their transmission and their site-specific colonization in the neonate remain unexplored.

MANTENIMIENTO DE LA SALA DE ORDEÑO: ¿SE DEBEN SEGUIR SIEMPRE LAS RECOMENDACIONES DEL FABRICANTE? ¿CON QUÉ FRECUENCIA DEBE REALIZARSE UN ENSAYO DINÁMICO? ¿DEBE COMBINARSE CON UNA AUDITORIA DEL TIEMPO DE ORDEÑO?

Andrew Biggs

MRCVS BVSc Grupo de Veterinarios Vale. Tiverton, Devon EX164LF UK
Mandy Boddy Laboratory Manager

¿A quién debes preguntar, al ingeniero de la maquinaria de ordeño o a la vaca?

Se dice que cuando un ingeniero encargado de la máquina de ordeño hace unas pruebas en la sala de ordeño, comienza con la bomba de vacío y sigue el proceso hasta llegar a la vaca. Un veterinario que participan en la pruebas del funcionamiento de una máquina de ordeño y en auditorias del tiempo de ordeño comienza por "preguntarle" a la vaca.

De alguna manera yo sí me fijo en el tipo de sala (por ejemplo, línea alta versus línea baja), el vacío de trabajo recomendado, y todos conocemos las directrices para configurar la pulsación en nuestros países; sin embargo, esto es principalmente para ver si la configuración está muy desajustada antes de empezar.

Configuración de la sala

Vacío de trabajo

- Sala de línea alta de 45 a 48 kPa
- Sala de línea baja de 45 a 44 kPa

Pulsación

- Velocidad 60cpm
- Relación: 60:40 o 65:35 son valores comunes

Datos de tiempo de ordeño - objetivos

- Tiempo del enganche - 60 - 90 segundos.
- Tiempo enganchado a la máquina < 5 minutos
- Ordeño excesivo (overmilking) < 2 minutos
- Vacío punta pezón (SMT) - 32 - 42kPa
- Vacío en Cámara de la Boca < 20kPa es bueno, 20 - 25 kPa está bien, mas de 25 kPa indica un defecto al montar la pezonera
- Proporción de vacío favorable en la Cámara de la Boca [MPC] - >50% del tiempo
- Número de fluctuaciones de vacío irregular (IVF) - < 2 por animal.
- Proporción de Presión Negativa de Ordeño (NPM) - < 20% [MPC > SMT o vacío final tetina]
- Leche residual (Stripyields)
  - o Bueno - 4 o menos (<100ml por cuarto)
  - o Malo - 5 o más (<100ml por cuarto)
- Sobrepresión - < 12kPa

¿Cómo preguntamos a la vaca?

La primera cosa a tener en cuenta es que si vas a inspeccionar la sala sólo sin ayuda, no podrás completar todas las tareas de evaluación. MandyBoddy, la directora del Laboratorio Vale, me acompaña y compartimos las tareas e incluso así no siempre es posible reunir todos los datos.

En primer lugar, hago un vídeo de al menos 2 o 3 turnos de ordeño de forma que se pueden reproducir posteriormente para ver de nuevo la rutina, y también tomo fotografías del color y del extremo de los pezones, además de palpar los pezones en cuanto se quitan las unidades. La directora del Laboratorio Vale realiza mediciones de tamaño de los pezones entre la preparación de los pezones y cuando se coloca la unidad cuando el pezón está hinchado y arañada inmediatamente al quitar la unidad. Veo la leche residual inmediatamente después de que se quiten las unidades y hago mediciones de la sobrepresión entre 1 y 2 minutos después de poner las copas de sellado.

El video también permite calcular lo siguiente para cada vaca:-

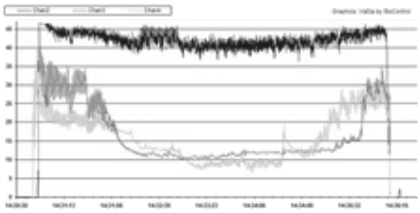
- Tiempo del 1er toque de la unidad hasta unidad funcionando (mínimo, máximo, promedio y mediana)
- Tiempo desde apagado de la unidad hasta pulverización posterior (mínimo, máximo, promedio y mediana) - a menos que sea automatizado



Los datos de tiempo de ordeño dinámicos se recopilan con 2 unidades VaDia (Biocontro)



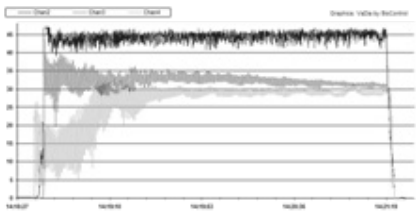
Medidor de presión para medir la sobrepresión en cámara de pulsación corta



Buen ordeño

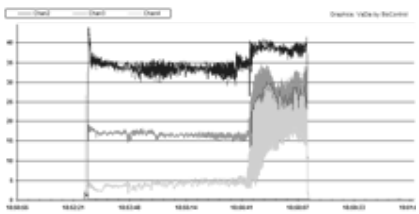
Buen ajuste de la pezonera

Idealmente, el vacío de la Cámara de Boca a < 20kPA durante media unidad a tiempo.



Vacío de Cámara de Boca

Mal ajuste de pezones en pezonera



Exceso de ordeño

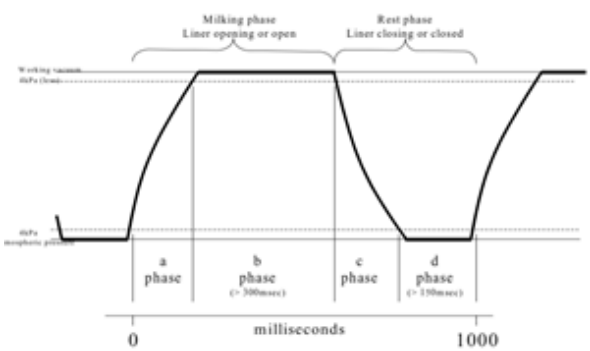


VaDia for pulsator test (T-pieces supplied in VaDia kit)



VaDia connected to milking cluster for pulsator dry-test

También se realizan pruebas de pulsación utilizando el VaDia



Ejemplo de objetivos de pulsación "estándar"

REBAÑO PROBLEMATICO

Ordeño 3xdía

Producción 11.500 litros

Tasa de mastitis clínica

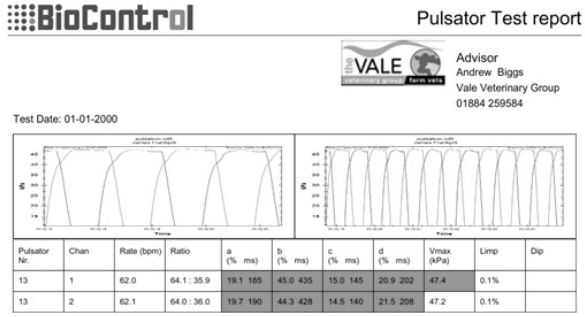
- 7,5% por mes (85 casos de mastitis por 100 vacas)

Puntuación de pezón hiperqueratosis

- 35% R & VR puntuación tetina

Configuración de la sala y conclusiones

- Vacío de trabajo - 47kPa
- ACR inicio 850ml/min con retraso de 4.5 segundos
- Leche residual OK <100ml por cuarto.
- Sobrepresión OK - todos < 12kPa


BioControl
Pulsator Test report
VALE
Advisor
Andrew Biggs
Vale Veterinary Group
01884 259584
Test Date: 01-01-2000

Pulsator Nr.	Chan	Rate (bpm)	Ratio	a (% ms)	b (% ms)	c (% ms)	d (% ms)	Vmax (kPa)	Limp	Dip
13	1	62.0	64.1 : 35.9	19.1 185	45.0 435	15.0 145	20.9 202	47.4	0.1%	
13	2	62.1	64.0 : 36.0	19.7 190	44.3 428	14.5 140	21.5 208	47.2	0.1%	

Todas las fases

"a" "b" "c" y "d"

están resaltadas en rojo

Es decir, fuera de mis valores objetivo

Consulte la tabla que aparece a continuación

PERO todos están bien para el "estándar" y los objetivos indicados arriba!

Mis objeticos de pulsaciones

Phase	Target time	% +/-	+/- time	min time	max time	RATIO
a	150	20	30	120	180	65
b	500	10	50	450	550	
c	115	20	23	92	138	35
d	235	10	23.5	211.5	258.5	
	1000			873.5	1126.5	
			Variation	-12.65%	12.65%	

Aidememoir = "c" es para cerrar, entonces "d" está cerrada, etc

	Original		
a	180		
b	430		
c	150		
d	200		
Total	960	ms for 62cpm	

Yo siempre empiezo mirando la fase "d" y busco >210ms las vacas no están interesadas en porcentajes!! Quieren saber cuánto tiempo sus tetas están recibiendo el alivio del vacío.

Configuración original

"a" y "c" largo que significa que el sistema no está respirando bien

Esto es en detrimento de "b" y "d", que van un poco cortos.

La pulsación fue probado en vivo cambiando lo siguiente:-

Acortar el tubo de pulsación mejoró tanto "a" como "c"

Tenía buena pinta, pero tendría un costo de 1.500,00 euros para mover

la línea de vacío hacia abajo de modo que las vacas pueden ser

ordeñadas ya que no se podían poner las unidades en las vacas con el tubo de pulsación más corto!!!

		ms	%
64	a	154.8	16
36	b	464.5	48
	c	116.1	12
	d	232.3	24
		967.7	62cpm
	Shorter long pulse tube		

El quitar el limitador de aire fresco mejoró “c” (y “b” y “d”).

Pero “a” todavía estaba un poco largo y “b” corto.

64	a	164.5	17	
36	b	454.8	47	
	c	106.5	11	
	d	241.9	25	
		967.7	62cpm	
	Restrictor off original pulsation tube			

Diámetro mayor pulsación larga y limitador de aire fresco cortado

“c” ahora corto y “d” demasiado largo

		ms	%
63	a	145.2	15
37	b	464.5	48
	c	96.8	10
	d	261.3	27
		967.7	62cpm
	Restricor off large pulsation tube		

Con el limitador conectado de nuevo, diámetro mayor, tubo de pulsación parece OK

		ms	%
63	a	140.3	14.5
37	b	469.4	48.5
	c	116.1	12
	d	241.9	25
Restricor back on large pulsation tube			

Cambio de velocidad de pulsación de 62 cpm a 60 cpm

Da 1000ms en lugar de 967, mejorando “b” y “d”

“a” y “c” fijos ahora ya que sólo se cambió la velocidad (cpm)

Las cifras en casillas rojas prácticamente son los objetivos = CONFIGURACIÓN FINAL

ESTE EQUIPO HA SIDO PROBADO DURANTE 4 AÑOS COMO EL ORIGINAL ARRIBA

EL INGENIERO DIJO QUE ESTABA BIEN, aunque estaba de acuerdo con mis cambios!!

ms	ms	ms
	140.3	
509.7	499.7	489.7
	116.1	
233.9	243.9	253.9
	1000.0	
65-35	64-36	63-37
60bpm	60bpm	60bpm

ESTE ERA UN REBAÑO PROBLEMÁTICO CON DEMASIADOS CASOS DE MASTITIS

Y DEMASIADO R & VR HIPERQUERATOSIS

PRÁCTICAMENTE SIN COSTO - DIÁMETRO MAYOR PULSACIÓN Y LA REDUCCIÓN DE LA VELOCIDAD A 60 cpm

RESUMEN

El rebaño problemático tuvo:-

- Demasiada mastitis clínica
- Demasiada hiperqueratosis
- Algunos anillos y descoloración azul de las tetinas pero no mucho!

Cambios realizados:-

- Vacío de 47 kPA se redujo a 44kPa entonces de redujo de nuevo a 42kPa dos semanas después.
- Diámetro mayor del tubo largo de pulsación que redujo “a” y “c”

o “a” y “c” fueron largas en detrimento de “b” y “d”

- Velocidad de pulsación 62cpm reducida a 60 cpm

  o La Pulsación de 62 cpm da un tiempo de ciclo total de 967ms

  o La Pulsación de 60 cpm da un tiempo de ciclo total de 1000ms

ć Las Fases (“b” y “d”) se vuelven más largas

- Aumento de la fase de ordeño “b”
- Incrementa el reposo o fase de masaje “d”, lo cual es bueno para la vaca.

Cambio de velocidad de pulsación (cpm)

Si el cpm es de 60 entonces el porcentaje x 10 = ms

- Por ejemplo el 23% de la fase “d” con 60 cpm = 230 ms de la fase “d”

Tenga cuidado, el cambiar el cpm produce diferencias significativas a “b” y “d” en relación al tiempo en ms

Una velocidad de pulsación de 62cpm reduce la fase “d” a 219ms

Una velocidad de pulsación de 65 cpm reduce la fase “d” más aún a 203ms, lo cual es ahora < el objetivo 210ms

CONCLUSIÓN

Los valores configurados entraron dentro del rango que el ingeniero pensaba que estaban bien - estaban bien según los manuales de los fabricantes pero las vacas dijeron NO !!!

Después de reducir el vacío de 47kPa a 42 kPa y cambiar la

velocidad de pulsación de 62 a 60 cpm y cambiar el tubo de pulsación largo por un diámetro mayor, las tasas de mastitis clínica disminuyeron; sin embargo, se tardó algo de tiempo en ver una disminución de los casos de hiperqueratosis.

ENGLISH VERSION

Maintenance of the milking parlour: should the manufacturer's recommendations always be followed? How often should a dynamic test be performed? Should it be combined with a milking time audit?

Andrew Biggs

BVSc MRCVS The Vale Veterinary Group. Tiverton Devon EX164LF UK

Mandy Boddy Laboratory Manager

Who should you ask the milking machine engineer or the cow?

It is said that if a milking machine engineer tests a milking parlour they start at the vacuum pump and work their way towards the cow. A veterinarian involved in milking machine testing and milking time audits starts by "asking" the cow.

In some ways I do look at the type of parlour (eg high line versus low line) the recommended working vacuum and we all know the pulsation setting guidelines for our own countries however this is more to see if the settings are way out before you start.

Parlour settings

Working vacuum

- High line parlour 45 to 48 kPa
- Low line parlour 40 to 44 kPA

Pulsation

- Rate 60cpm
- Ratio 60::40 or 65:35 are common

Milking time data - targets

- Attachment time - 60 – 90seconds
- Machine on time < 5 minutes
- Overmilking < 2 minutes
- Teat end vacuum (SMT) - 32 – 42kPa
- MPC vacuum < 20kPa is good 20 – 25kPa is OK higher than 25kPa indicates poor liner fit
- Proportion of favourable Mouthpiece Chamber [MPC] vacuum - >50% of time
- Number of Irregular Vacuum Fluctuations (IVF) - < 2 per animal
- Proportion of Negative Pressure Milkings (NPM) - < 20% [MPC > SMT or teat end vacuum]
- Strip yields
  - Good - 4 or fewer strips (<100ml per quarter)
  - Poor - 5 or more easy strips (>100ml per quarter)
- Overpressure - < 12kPa

How do we ask the cow?

The first thing to be aware of is if you are looking at the parlour on your own you will not be able to complete all the assessment tasks yourself. Mandy Boddy The Vale Laboratory manger accompanies me and we share the tasks and even then it is not always possible to collect all the various data.

First of all I video at least 2 or 3 turns of the milking so this can be played back later so I can be reminded of the routine and I also take photos of teat colour and teat ends as well as palpating teats immediately the units come off. The Vale Laboratory manager performs teat size measurements between teat preparation and unit on when the teat is plump and teat scoring immediately after the units come off. I perform strip yields immediately after the units come off and over-pressure measurements around 1 to 2 minutes after cups on.

The video also allows the following can be calculated for each cow:-

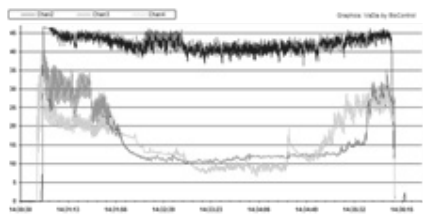
- 1st touch to unit on timing (min, max , mean and median)
- Unit off to post spray timing (min, max , mean and median) – unless automated



Dynamic milking time data is collected with 2 VaDia units (Biocontrol)



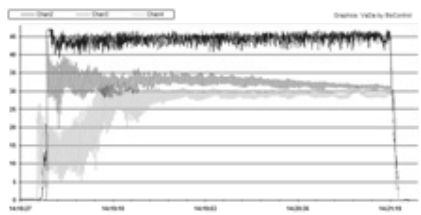
Pressure gauge for measuring overpressure in short pulsation tube



Good milking

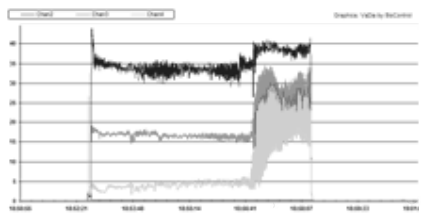
Good liner fit

Ideally mouthpiece vacuum at < 20kPA for half unit on time



High mouthpiece vacuum

Poor fit of teats in liner



Overmilking

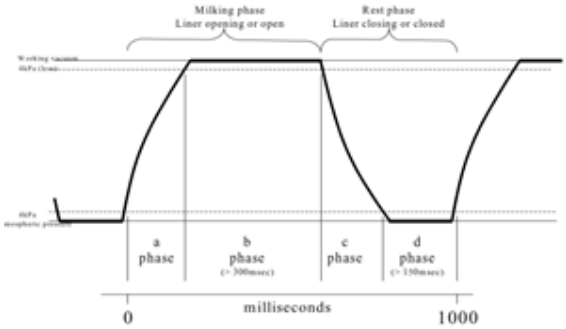


VaDia for pulsator test (T-pieces supplied in VaDia kit)



VaDia connected to milking cluster for pulsator dry-test

Pulsation testing is also performed using the VaDia



Example of "standard" pulsation targets

PROBLEM HERD

Milking 3x day

Yield 11,500 litres

Clinical mastitis rate

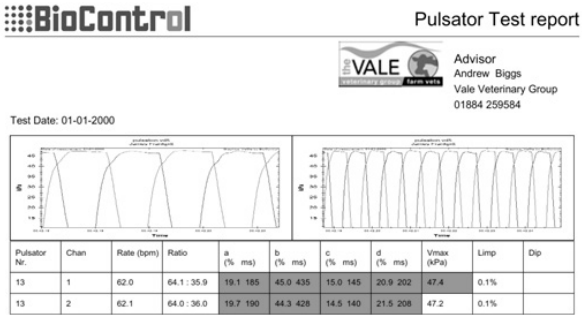
- 7.5% per month (85 cases mastitis per 100 cows)

Teat Hyperkeratosis score

- 35% R & VR teat score

Parlour settings and findings

- Working vacuum - 47kPa
- ACR take off 850ml/min with 4 .5 sec delay
- Strip yields OK <100ml per quarter
- Overpressure OK – all < 12kPa



BioControl

Pulsator Test report

VALE

Advisor
Andrew Biggs
Vale Veterinary Group
01884 259584

Test Date: 01-01-2000

Pulsator Nr.	Chan	Rate (bpm)	Ratio	a (% ms)	b (% ms)	c (% ms)	d (% ms)	Vmax (kPa)	Limp	Dip
13	1	62.0	64.1 : 35.9	19.1 185	45.0 435	15.0 145	20.9 202	47.4	0.1%	
13	2	62.1	64.0 : 36.0	19.7 190	44.3 428	14.5 140	21.5 208	47.2	0.1%	

All phases
"a" "b" "c" and "d"
are highlighted in red
ie outside my target values
See table below
BUT All are OK for the "standard" trace and targets above!

My pulsation targets

Phase	Target time	% +/-	+/- time	min time	max time	RATIO
a	150	20	30	120	180	65
b	500	10	50	450	550	
c	115	20	23	92	138	35
d	235	10	23.5	211.5	258.5	
	1000			873.5	1126.5	
			Variation	-12.65%	12.65%	

Aide memoir = "c" is for closing then "d" is closed etc

I always start with looking at "d" phase and aim for >210ms cows are not interested in percentages!! They want to know how long their teats are getting relief from vacuum.

	Original		
a	180		
b	430		
c	150		
d	200		
Total	960	ms for 62cpm	

Original settings

"a" & "c" long which means the system is not breathing well

This is to the detriment of "b" and "d" which are a bit short

Pulsation was tested live by changing the following:-

Shortening pulsation tube improved both "a" & "c"

Looked good but would cost 1.500,00 Euro to move

vacuum line down so the cows could be milked as the units could not be put on the cows with the shorter long pulsation tube!!!

		ms	%
64	a	154.8	16
36	b	464.5	48
	c	116.1	12
	d	232.3	24
		967.7	62cpm
	Shorter long pulse tube		

Removing fresh air restrictor improved "c" (and "b" & "d")

But "a" still a bit long and "b" short

64	a	164.5	17	
36	b	454.8	47	
	c	106.5	11	
	d	241.9	25	
		967.7	62cpm	
	Restrictor off original pulsation tube			

Larger bore long pulsation AND fresh air restrictor off

"c" now short and "d" too long

		ms	%
63	a	145.2	15
37	b	464.5	48
	c	96.8	10
	d	261.3	27
		967.7	62cpm
	Restricor off large pulsation tube		

Restrictor back on larger bore long pulsation tube looks OK

		ms	%
63	a	140.3	14.5
37	b	469.4	48.5	
	c	116.1	12
	d	241.9	25
Restricor back on large pulsation tube			

Change Pulsation rate from 62cpm to 60 cpm

Gives 1000ms rather than 967 to play with so gained on “b” & “d”

“a” & “c” fixed now as only changed rate (cpm)

Figures in red boxes pretty much target = FINAL SETTINGS

THIS MACHINE HAD BEEN TESTED FOR 4 YEARS LIKE ORIGINAL ABOVE

ENGINEER SAID IT WAS OK – although he agreed with my changes!!

THIS WAS A PROBLEM HERD WITH TOO MUCH MASTITIS AND TOO MUCH R & VR HYPERKERATOSIS

ms	ms	ms
	140.3	
509.7	499.7	489.7
	116.1	
233.9	243.9	253.9
	1000.0	
65-35	64-36	63-37
60bpm	60bpm	60bpm

VIRTUALLY NO COST – LARGER BORE PULSATION AND REDUCING RATE TO 60cpm

SUMMARY

The problem herd had:-

- Too much clinical mastitis
- Too much Hyperkeratosis
- Some ringing and blue discolouration of teats but not much!

Changes made:-

- Vacuum 47 kPA reduced to 44kPa then reduced again to 42kPa 2 weeks later
- Larger bore long pulsation tube fitted which reduced “a” & “c”
  - “a” & “c” were long to detriment of “b” & “d”
- Pulsation rate 62cpm reduced to 60cpm
  - Pulsation cpm of 62 gives a total cycle time of 967ms
  - Pulsation cpm of 60 gives a total cycle time of 1000ms
- Phases (“b” & “d”) become longer
- Increase milking phase “b”
- Increases rest or massage phase “d” which is good for the cow.

Changing pulsation rate (cpm)

If the cpm is 60 then percentage x 10 = ms

eg 23% “d” phase with 60cpm = 230ms “d” phase

Be careful changing the cpm makes significant differences to “b” & “d” time in ms

Pulsation rate of 62cpm reduces the “d” phase to 219ms

Pulsation rate of 65cpm reduces the “d” phase further to 203ms which is now < target of 210ms

CONCLUSION

The settings were within the range that the engineer thought were OK – they were OK by the manufacturers book BUT the cows said NO !!!

After reducing the working vacuum from 47kPa to 42 kPa and changing the pulsation rate from 62 to 60cpm and changing the long pulsation tube for a larger bore the clinical mastitis rates dropped however it took time for hyperkeratosis scores to drop

TERAPIA DE MASTITIS BASADA EN PATÓGENOS

Rodrigo Bicalho

Universidad de Cornell

La mastitis clínica bovina es una enfermedad altamente prevalente y crea una carga económica indiscutible en la industria láctea (Heikkila *et al.*, 2012, Rollin *et al.*, 2015, Taponen *et al.*, 2017). Los principales contribuyentes al costo de la mastitis son la reducción de la producción de leche, los costes de tratamiento y el sacrificio prematuro (Cha *et al.*, 2011, Heikkila *et al.*, 2012, Rollin *et al.*, 2015). Los informes más recientes indican que el 24,8% de la cabaña lechera de los Estados Unidos se ven afectados con mastitis clínica (USDA, 2016), esto condujo al tratamiento del 21,7% de 9,3 millones de vacas lecheras estadounidenses con antimicrobianos intramamarios. No es de extrañar que la inmensa mayoría de los antimicrobianos utilizados en la industria láctea están asociados con el tratamiento o la prevención de la mastitis (Pol y Ruegg, 2007 Gomes y Henriques, 2015).

TRATAMIENTO BASADO EN PATÓGENOS

Los antimicrobianos sólo debe utilizarse para patógenos donde hay fuerte evidencia de sus beneficios. Como se ha señalado anteriormente, esto incluye patógenos de bacterias gram-positivas, no contagiosas. La terapia basada en el cultivo, "selectiva" o "basada en patógenos" se basa en el uso de resultados de cultivos de diagnóstico para manejar un caso de CM. Los métodos de cultivo utilizando medios selectivos para bacilos gram-negativos o patógenos gram-positivos han sido evaluados para el uso agrícola y han logrado altas sensibilidades y especificidades de sus habilidades para clasificar correctamente las muestras en sus respectivo estado-gram (McCarron *et al.*, 2009; Keefe *et al.*, 2010; Godden *et al.*, 2007). Además los grupos han demostrado que la demora de 24 horas para aquellos casos que posteriormente reciben tratamiento no contribuye a la repetición de CM (Wagner *et al.*, 2007). En un protocolo basado en el patógeno, el número de casos clínicos que requieren el uso de antibióticos IMM pueden reducirse hasta en un 80% (Hess *et al.*, 2003). En el estudio realizado por Hess *et al.* (2003), no se realizaron comparaciones estadísticas entre grupos tratados y no tratados, aunque anecdóticamente, la falta de tratamiento no condujo a disminuir la gravedad y las vacas asignadas a tratamiento en la categoría de "no crecimiento", no volvieron a dar leche normal más rápidamente que aquellas que no fueron tratadas. Los días de tratamiento en la cuadra eran equivalentes al período de retención del fármaco utilizado; los signos clínicos fueron similares para las vacas tratadas y las que no lo fueron. Además, un estudio que abarcó 54 granjas lecheras canadienses evaluó la utilidad de un sistema de cultivo en granja (OFC) (Petrifilm) para la terapia selectiva. No se observaron diferencias en las tasas de curación bacteriológica o clínica para los grupos de cultivo y de tratamiento combinado cuando se evaluaron 631 casos (Keefe *et al.*, 2010). Los protocolos basados en patógenos pueden ser específicos de los lácteos; no todos los protocolos especifican el tratamiento de patógenos Gram-positivos solamente (Wagner *et al.*, 2007).

Se publicaron dos manuscritos revisados por pares (expertos) que describen el uso del cultivo para impulsar la terapia basada en patógenos en 2011 y 2018 (Lago *et al.*, 2011a; b; McDougall *et al.*, 2018). En el estudio anterior, 422 vacas de 8 fincas lecheras comerciales fueron asignadas aleatoriamente a un tratamiento general con sodio cephapirin o una tratamiento basado en cultivos mediante el sistema de cultivo fácil de Minnesota (Minnesota Easy Culture System) en el que sólo las vacas con cultivos positivos para patógenos gram-positivos fueron tratadas con sodio cephapirin IMM (Lago *et al.*, 2011a;b). El grupo encontró una reducción en el uso de antibióticos en un 50% sin variación de días de curación clínica, riesgo de curación bacteriológica, nuevo riesgo IMI, riesgo de fracaso del tratamiento, recurrencia de CM, CC lineal, producción diaria de leche y riesgo y días para sacrificio. McDougall *et al.* evaluaron un sistema basado en un cultivo (Check-up; Farm Ltd., Aukland Medix, NZ) versus una terapia general en 4 rebaños en Nueva Zelanda. Las vacas en el grupo selectivo con resultados de cultivo de crecimiento nulo o gram-negativos no recibieron tratamiento. Aquellas vacas dentro del grupo selectivo que fueron tratadas recibieron cloxacilina (Staphylococcus aureus) IMM o penicilina IMM (patógenos grampositivos no aureus), y las vacas del grupo general recibieron penicilina IMM. Se experimentó una reducción de 0,66 dosis diarias (uso antimicrobiano 25% menor) para el grupo selectivo, sin que se encontraran diferencias entre el grupo general y el ganado tratado selectivamente en la proporción tratada de nuevo para CM (McDougall *et al.*, 2018).

Además de los sistemas de cultivo validados, el éxito de un protocolo selectivo en la granja requiere que los propietarios del rebaño y el personal tengan el tiempo para inocular e interpretar, tengan confianza en su interpretación y toleren dejar las vacas sin tratar durante 24 horas (Neeser *et al.* , 2006). Para aquellos que tienen menos confianza en el diagnóstico basado en el cultivo, existe la oportunidad de enviar muestras de mastitis a un laboratorio de diagnóstico o veterinario que ofrece una entrega rápida de los resultados para la toma de decisiones. No hay estudios recientes que hayan evaluado esta oportunidad.

Economía del Tratamiento basado en Patógenos

Los factores inherentes a la vaca, como días de producción de leche y leche al momento del inicio del CM, el número de eventos de CM durante la lactancia, el número de días de retención de leche, pérdida de la eficiencia reproductiva y pérdidas de producción de leche durante el resto de la lactancia contribuyen a la variabilidad del costo del CM (Fetrow, 2000; Hertl *et al.*, 2011; Hertl *et al.*, 2014; Rollin *et al.*, 2015). Utilizando una programación dinámica, el gasto promedio por caso de CM es más alto para casos gram-negativos ($211) en los que la mayor contribución son los costes asociados con la pérdida de producción de leche (Cha *et al.*, 2011). Esto se compara con los casos gram-positivos y "otros" casos, en los que el tratamiento contribuyó principalmente al coste. Los hallazgos de Cha *et al.* indicaron que la rentabilidad económica óptima se produjo cuando se trataron el 93.1% de los casos de CM grampositivos, el 93.1% de los casos de CM gramnegativos y el 94.6% de los demás casos de CM. Sin embargo, la respuesta de cada uno de los patógenos a los productos antimicrobianos, que también puede ser un factor de los costes de tratamiento, no fueron tenidos en consideración en el modelo (Cha *et al.*, 2011). El mismo grupo calculó el valor de la información de saber el agente causal de CM y determinó si la obtención de esa información estaba económicamente justificada utilizando un modelo de programación dinámica. La principal conclusión fue que el valor de la información fue mayor cuando la identificación

de la CM se hizo a nivel genérico (síntomas clínicos solamente) y el tratamiento se basó en el patógeno de mayor incidencia. Sin embargo, todas las decisiones de tratamiento basadas en la información incluían el uso de un antimicrobiano; no se consideró para el análisis ninguno de los grupos no tratados (Cha *et al.*, 2016). Sería interesante determinar el comportamiento de protocolos selectivos en estos modelos.

Pinzón-Sánchez *et al.* utilizaron la modelización del árbol de decisión (que incluía el patógeno, la probabilidad de curación y la probabilidad de recurrencia, entre otras variables) para evaluar la economía de las prácticas terapéuticas. El grupo encontró que cuando se comparan protocolos de 2, 3 y 5 días, la estrategia más rentable a la hora de implementar el OFC era tratar a los patógenos gram-positivos durante 2 d, al tiempo que permite a los resultados de cultivos negativos y gramnegativos a "auto-curarse" (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011). Una vez más, en 2011, se utilizó el modelo de Monte-Carlo para determinar la economía de un sistema de 3M Petrifilm en la granja, teniendo en cuenta los factores de la vaca, así como los diagnósticos precisos contra los inexactos. El mayor potencial de rendimiento económico en los protocolos selectivos que utilizan diagnósticos en las granjas es en rebaños con diagnóstico preciso de casos y en rebaños con una mayor incidencia de casos de coliformes y cultivos negativos (MacDonald *et al.*, 2011). Los costes de estos rebaños ascienden a $539 por el Staph. aureus, $518 para otros microorganismos gram-positivos, $346 para casos de coliformes, y $326 para los casos negativos. Esto se compara con los $402, $460, $461 y $452, respectivamente, cuando todos los casos son tratados con antimicrobianos. Por último, Down *et al.* (2017) utiliza el análisis de sensibilidad probabilístico para evaluar el coste-efectividad del uso de un enfoque basado en cultivos en la misma granja y encontró que un enfoque OFC no es rentable en muchas circunstancias, en particular para aquellos en los que los patógenos gram-positivos son responsables de más del 20% de todos los casos. Sin embargo, muchos aportes del modelo se basaron en los hallazgos de otros modelos de la literatura en lugar de los resultados de los ensayos clínicos (Down *et al.*, 2017). A pesar de todo, los resultados acumulativos de los modelos económicos describen la necesidad de una evaluación específica en la granja de la prevalencia de los patógenos antes de su aplicación para determinar los rendimientos.

ENGLISH VERSION

Pathogen based mastitis therapy

Rodrigo Bicalho

Cornell University

Bovine clinical mastitis is a highly prevalent disease, and creates an incontestable economic burden in the dairy industry (Heikkila *et al.*, 2012, Rollin *et al.*, 2015, Taponen *et al.*, 2017). The main contributors to the cost of mastitis are decreased milk production, treatment costs, and premature culling (Cha *et al.*, 2011, Heikkila *et al.*, 2012, Rollin *et al.*, 2015). Most recent reports indicate that 24.8% of the United States' dairy herd are affected with clinical mastitis (USDA, 2016), leading to the treatment of 21.7% of the US' 9.3 million dairy cows with intramammary antimicrobials. It is not surprising that the vast majority of antimicrobials used in the dairy industry are associated with the treatment or prevention of mastitis (Pol and Ruegg, 2007, Gomes and Henriques, 2015).

PATHOGEN-BASED TREATMENT

Antimicrobials should only be used for pathogens where there is strong evidence of their benefits. As outlined above, this includes gram-positive, non-contagious pathogens. "Culture-based," "selective," or "pathogen-based" therapy is the use of diagnostic culture results to manage a case of CM. Culture methods using selective media for gram-negative or gram-positive pathogens have been evaluated for on-farm use and have achieved high sensitivities and specificities for their abilities to correctly classify samples into their respective gram-status (McCarron *et al.*, 2009; Keefe *et al.*, 2010; Godden *et al.*, 2007). Additionally groups have shown that the 24 hour delay for those cases that subsequently receive treatment does not contribute to recurrence of CM (Wagner *et al.*, 2007). In a pathogen based protocol, the number of clinical cases requiring the use of IMM antibiotics can be reduced by up to 80% (Hess *et al.*, 2003). In the study by Hess *et al.* (2003), statistical comparisons were not made between a treated and non-treated group, though anecdotally, withholding of treatment did not lead to decrease severity, and cows assigned to treatment in the "no growth" category did not return to normal milk quicker than those that were not treated. Days in the treatment pen was equivalent to the withholding period for the drug used; clinical signs were similar for cows treated and those that were not. Additionally, a study including 54 Canadian dairy farms evaluated the utility of an on-farm culture (OFC) system (Petrifilm) for selective therapy. No differences in clinical or bacteriological cure rates were observed for the culture and blanket treated groups when 631 cases were assessed (Keefe *et al.*, 2010). Pathogen-based protocols can be dairy specific; not all protocols specify treatment of only gram-positive pathogens (Wagner *et al.*, 2007).

Two peer-reviewed manuscripts were published describing the use of culture to drive pathogen-based therapy in 2011 and 2018 (Lago *et al.*, 2011a; b; McDougall *et al.*, 2018). In the earlier study, 422 cows from 8 commercial dairy farms were randomly assigned to blanket therapy with cephapirin sodium or a culture-based treatment program using the Minnesota Easy Culture System in which only cows with cultures positive for gram-positive pathogens were treated with IMM cephapirin sodium (Lago *et al.*, 2011a;b). The group found a reduction in antibiotic use by 50% without differences in days to clinical cure, bacteriological cure risk, new IMI risk, treatment failure risk, recurrence of CM, linear SCC, daily milk production, and risk and days for culling or death events. McDougall *et al.* evaluated a culture-based system (Check-up; Farm Medix Ltd., Aukland, NZ) versus blanket therapy on 4 herds in New Zealand. Cows in the selective group with no-growth or gram-negative culture results received no treatment. Those cows within the selective group that were treated received IMM cloxacillin (Staph. aureus) or IMM penicillin (non-aureus gram-positive pathogens), and cows in the blanket group received IMM penicillin. A reduction of 0.66 daily doses (25% lower antimicrobial use) was experienced for the selective group, with no differences found between blanket and selectively treated cattle in the proportion retreated for CM (McDougall *et al.*, 2018).

In addition to validated culture-systems, success of an on-farm selective protocol requires that herd owners and staff have the time to inoculate and interpret, are confident in their interpretation, and can tolerate leaving cows untreated for 24 hours (Neeser *et al.*, 2006). For those who are less confident in culture-based diagnostics, an opportunity exists for the submission of mastitis samples to a diagnostic or veterinary laboratory that offers prompt turnaround of results for decision-making. No recent studies have evaluated this opportunity.

Economics of Pathogen-Based Treatment

Cow factors such as days in milk and milk production at the time of CM onset, the number of CM events within the lactation, the number of days of milk withheld from sale, loss of reproductive efficiency, and milk production losses for the remainder of the lactation contribute to the variability of the CM cost (Fetrow, 2000; Hertl *et al.*, 2011; Hertl *et al.*, 2014; Rollin *et al.*, 2015). Using dynamic programing, the average expense per case of CM is highest for gram-negative cases ($211) with the major contribution being costs associated with milk production loss (Cha *et al.*, 2011). This compares with gram-positive and "other" cases where the major contributor to costs was treatment. The findings of Cha *et al.* indicated that optimal economic profitability occurred when 93.1% of gram-positive CM cases, 93.1% of gram-negative CM cases, and 94.6% of "other" CM cases were treated. However, response of individual pathogens to antimicrobials, which can also factor into treatment costs, was not considered in the model (Cha *et al.*, 2011). The same group estimated the value of information in knowing the causative agent of CM and determined whether obtaining that information was economically justified by using a dynamic programming model. The primary finding was that the value of information was greatest when identifying CM at the generic level (clinical symptoms only) and treating based on the highest incidence pathogen. However, all information-based treatment decisions involved use of an antimicrobial; no untreated groups were considered in the analysis (Cha *et al.*, 2016). It would be interesting to determine the behavior of selective protocols in these models.

Pinzón-Sánchez *et al.* used decision tree modelling (which included pathogen, probability of cure and probability of recurrence, among other variables) to evaluate economics of treatment practices. The group found that when comparing 2, 3, and 5 day protocols, the most cost-effective strategy when implementing OFC was to treat gram-positive pathogens for 2 d while permitting culture-negative and gram-negative results to "self-cure" (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011). Again in 2011, Monte-Carlo modeling was used to determine the economics of a 3M Petrifilm on-farm system, considering cow factors as well as accurate versus inaccurate diagnoses. The greatest potential for economic return in selective protocols that use on-farm diagnostics is in herds with accurate diagnosis of cases and in herds with higher incidences of coliform and culture-negative cases (MacDonald *et al.*, 2011). Costs in these herds amount to $539 for Staph. aureus, $518 for other gram-positive organisms, $346 for coliform cases, and $326 for culture negative cases. This compares to $402, $460, $461, and $452, respectively, when all cases are treated with antimicrobials. Finally, Down *et al.* (2017) used probabilistic sensitivity analysis to evaluate the cost-effectiveness of using an on-farm culture approach and found that an OFC approach is not cost-effective in many circumstances, in particular not for those in which gram-positive pathogens are responsible for more than 20% of all cases. However, many inputs for the model were based upon findings from other models in the literature rather than findings from clinical trials (Down *et al.*, 2017). Regardless, the cumulative findings of the economic models outline the need for farm-specific evaluation of pathogen prevalence prior to implementation to determine returns.

STREPTOCOCCUS UBERIS: CONTAGIOSO, AMBIENTAL, AMBOS? CÓMO GESTIONARLO?

Andrew Biggs

Vall Veterinary Group

¿Qué es el Strep uberis?

El Streptococcus uberis es el "estreptococo ambiental" más importante en el mundo desarrollado (Estados Unidos, Reino Unido, NZ, AUS, UE, Canadá). Afecta la producción de leche, su calidad y el bienestar del animal resultando en un uso ineficiente de los recursos y puede tener llegar a contribuir a las preocupaciones mundiales relacionadas con la resistencia a los antimicrobianos. Parece aparecer cada vez más en la industria láctea de todo el mundo y, de hecho, puede tener una incidencia creciente.

Un poco de historia

Desde su introducción en 1950, en un momento en que por ejemplo el SCC promedio de rebaños en el Reino Unido era de alrededor de 500.000 células/ml, el plan de 5 puntos NIRD ha contribuido a una reducción significativa de los casos de mastitis clínicas y subclínicas en todo el mundo. En ese momento, las vacas infectadas con patógenos crónicos en las ubres eran comunes y, a menudo, había más vacas infectadas en el rebaño que no infectadas. Las infecciones intramamarias (IMIs) eran predominantemente de bacterias gram positivas, tales como Staph aureus y menos comúnmente los estreptococos aesculin no divisibles (Strep agalactiae). A medida que los esfuerzos para mejorar la calidad de la leche se tradujeron en la reducción de la prevalencia de vacas infectadas crónicamente, estas infecciones persistentes con las bacterias gram positivas, tales como Staph aureus y Strep agalactiae, se hicieron menos comúnes, y el promedio nacional de SCC empezó a caer. Como las bacterias de origen ambiental, tales como los bacilos gram negativos alargados, por ejemplo el E.coli y los estreptococos fecales como la Strep uberis asumieron mayor importancia, y la prevalencia e incidencia de bacterias gram positivas IMIs se redujo, el plan de 5 puntos se volvió menos útil para la continuación de las mejoras en el control de la mastitis. Esto es debido a que 3 de los 5 puntos incluyen el tratamiento y el sacrificio para eliminar las infecciones existentes, lo cual tendría poco efecto sobre el impacto en la salud de la ubre de patógenos de mastitis ambientales. Sin embargo, esos puntos podrían ser beneficiosos en los casos de cepas persistentes adaptadas de la ubre, como por ejemplo el Strep uberis, son prevalentes.

¿Qué ven los granjeros y los veterinarios en los casos de Strep uberis?

Algunos casos de mastitis clínica son fáciles de tratar, algunos pueden ser difíciles, y algunos se repiten resultando en el comentario generalizado de "Traté a la vaca y todo parecía ir bien, y justo antes de volver a meter su leche en el tanque a granel, regresó la mastitis de nuevo". Estas infecciones potencialmente contaminantes de Strep uberis pueden dar lugar a vacas con altos recuentos de células con el potencial de una transmisión contagiosa.

¿De dónde proviene el Strep uberis ?

- Origen ambiental

El uso de lecho orgánico actúa como una potente fuente de riesgo de Strep uberis. En orden de riesgo, tenemos la paja> serrín > arena. Sin embargo, los pastizales también pueden ser un riesgo especialmente en parcelas donde hay una acumulación de infecciones, por ejemplo en pastos desnudos donde las vacas se refugian de la lluvia o del sol bajo los árboles, que suele denominarse "camping", se dan recuentos altos de Strep uberis ya sea como simple contaminación o posible multiplicación.

En 2005 Zadoks *et al.* analizaron una serie de fuentes y encontraron que el 63% de las muestras ambientales daban positivo en el Streptococcus uberis. Más concretamente, el 89% del suelo, el 64% de los pastos, 42% del agua y el 23% de las muestras de materia fecal dieron positivo para Streptococcus uberis. Otras muestras tales como el heno, las moscas, las hojas y el lecho (limpio y usado), también se descubrió que producían Strep uberis. Sin embargo, no se encontró ni en la henolaje ni en medio no agrícolas.

En las explotaciones, se encontró el Strep uberis en las vacas en su aparato digestivo (los labios, las amígdalas, el rumen, recto y heces), en el tracto respiratorio, tracto urogenital, heridas infectadas y abscesos, el pelo del ganado, el orificio de la ubre, el canal del pezón y la piel de la ubre, así como en las fuentes más obvias de infección de las glándulas mamarias del ganado.

- Origen contagioso

La propagación contagiosa está más determinada por el comportamiento de un patógeno de la mastitis que por su nombre.

Las cepas que tienen la capacidad de llegar a ser persistentes tienen que evitar, o al menos sobrevivir en el sistema inmune mamario cuyo propósito es eliminarlas. Las bacterias que pueden causar IMIs persistentes debido a estas características de supervivencia intramamaria son a menudo difíciles de tratar, dan lugar a casos de mastitis recurrente, y tienden a extenderse de forma contagiosa. Cuando los patógenos comúnmente llamados "ambientales" causan infecciones persistentes, a menudo se denominan "adaptadas a la vaca" (cow adapted) o "adaptadas a la ubre" (udder adapted).

Pruebas de evidencia de cepas de Strep uberis :-	
Infecciones de origen ambiental	**Infecciones de origen contagioso**
Alta incidencia de nuevas infecciones en:-	**Nuevas infecciones durante:-**
– Período seco	**– La lactancia**
– Novillas	
Asociado con una multitud de cepas	**Pocas cepas predominantes**
NO BROTES CLONALES	**BROTES CLONALES**
	Infecciones crónicas (SCC alta)
	Casos difíciles de tratar
	Brotes recurrentes

Póster de la Conferencia Británica sobre Mastitis de 1996

Mis sospechas surgieron en una pequeña granja familiar donde las infecciones persistentes de Strep uberis (aislamiento de Strep uberis de vacas con alta SCCs) donde se observaron casos clínicos recurrentes y difíciles de tratar de Strep uberis en 1995/6 y se presentó un cartel en la Conferencia Británica de Mastitis en 1996.

"Streptococcus uberis contagioso o ambiental? ¿Plantean las vacas portadoras una amenaza?". *Aunque algunos médicos pueden considerar que están viendo un aumento de E.coli mastitis con informes ocasionales de una incidencia de mastitis tóxicas bastante alarmantes en rebaños, en la experiencia de los autores es el Strep uberis el que está llenando el nicho que queda al eliminar los principales patógenos más comunes. A menudo los rebaños que tienen problemas con vacas "porteadoras" están bien gestionados y tienen bajos niveles de BMSCCs (<200,000 células por ml).*

La propagación contagiosa en este rebaño se sospechó cuando a) fueron identificadas unas vacas con altos SCC e infecciones persistentes de Strep uberis en el cuarto LF b) hubo un número de casos clínicos de Strep uberis en un corto período de tiempo en otras vacas con varios casos en los cuartos LF y c) no sólo hubo un aumento en las tasas de mastitis clínica, sino también varios fueron difíciles de curar y se repitieron.

¿Son las infecciones persistentes de Strep uberis factores de «Bug» (cepas adaptadas a las vacas) o factores de vaca (vacas inmunotolerantes) o ambos?

"Bug factors"

La variación de la virulencia de la cepa parece, al menos en parte, estar vinculada a la capacidad de liberar los nutrientes de la leche - es decir, la capacidad de crecer rápidamente, adherirse y asimilar y superar el efecto de lavado que tiene el ordeño sobre la población intramamaria.

El Strep uberis tiene varios trucos para sobrevivir en el medio ambiente intramamario que incluyen resistir la fagocitosis a veces con la ayuda de una cápsula de ácido hialurónico y adherirse e invadir células epiteliales bovinas activamente, lo cual le permite persistir sin dañar las células del huésped. La producción de biopelículas pueden producir la latencia y evitar los efectos de los antibióticos y las defensas inmunitarias. Además el Strep uberis y neutrófilos no se desarrollan de tal forma que menos pseudopodia son vistos con neutrófilos en presencia de Strep uberis y tienden a "redondear" y se vuelven menos fagocíticos y parecen estar en cierto modo desactivados.

Factores de "vaca"

Algunas vacas parecen tolerar el Strep uberis, sin embargo, parece ser una respuesta humoral normal en estas vacas tolerantes por lo que el fracaso para eliminar la bacteria no es debido a un deterioro de la respuesta inmune humoral; sin embargo, no está claro porqué algunas vacas parecen tolerar las infecciones de Strep uberis.

Evidencia temprana de vacas transportadoras de Strep uberis

Los métodos de identificación de cepas disponibles en 1989 fueron capaces de demostrar no sólo la variación de las cepas sino también dos grupos bioquímicamente distintos, uberis y parauberis (el último se pensó que era no-patógeno, pero desde entonces se ha asociado con infecciones en los peces y fue aislado del bazo de un lenguado recogido de una granja de acuicultura en la Isla de Jeju, Corea del Sur, en 2006).

Sin embargo tales cepas no ha podido demostrar una asociación directa entre "vacas portadoras" y la persistencia de Strep uberis dentro de un rebaño.

La identificación del PCR y PFGE (1996) han mostrado una variación considerable en la capacidad de las cepas de Strep uberis as persistir como IMIS. Se ha demostrado que las cepas que se encuentran en el periodo seco persisten durante el período seco e incluso a través de la próxima lactancia mientras otros parecían curarse por si mismos. Algunas cepas encontradas en la lactancia temprana persisten durante la lactancia, mientras que otras se diferencian de los encontrados en el posterior secado.

La supervivencia intracelular comparativa

Los estudios in vitro de cultivos de Strep uberis y Staph aureus con células epiteliales mamarias mostraton tanto a los Staph aureus y Strep uberis adjuntarse e internalizar las células epiteliales mamarias bovinas. El Staph aureus se internaliza más rápidamente, pero provoca daños de la célula huésped y la muerte, que es un factor limitante para la persistencia intracelular. El strep uberis se internaliza menos rápidamente pero no causa destrucción masiva de la célula huésped. Los estudios de cultivo Strep uberis in vitro y de células epiteliales mostraron que algunas cepas "internalizan" las células epiteliales con más rapidez que otros, y están asociadas a la mastitis sistémica más aguda, mientras que algunas cepas sobreviven dentro de las células epiteliales mejor que otras y están asociadas con la mastitis crónica más persistente. La persistente Strep uberis tiende a sobrevivir dentro de las células epiteliales mamarias durante largos periodos de tiempo sin afectar a la viabilidad de la célula huésped y puede estar asociada con una propagación a tejidos más profundos. No está claro si el número de bacterias viables interiorizada en células epiteliales esta más afectada por las variaciones en la capacidad de crecimiento intracelular (FACTORES VIRICOS) o la variación en el efecto sobre los mecanismos de muerte de huésped (FACTORES DE VACA).

Strep uberis y estado "portadora"

Aunque el Strep uberis es principalmente un patógeno de la glándula mamaria, existen unas tenues asociaciones con la vaginitis bovina, metritis, aborto, endocarditis y abscesos. Sin embargo, el aislamiento de Strep uberis del tracto urogenital y el intestino no es aleatorio y está asociada a determinados animales del rebaño. Estos animales son denominados "Vacas Portadoras" y pueden ser responsables de los elevados niveles de Strep uberis encontrados en el lecho en algunos rebaños con problemas. Se cree que las "Vacas Portadoras" mantienen el patógeno en el rebaño. Se ha demostrado que en cualquier ocasión el Strep uberis puede ser aislado del recto en alrededor del 5 al 7% de las vacas - intermittent shedders. En un pequeño número de vacas, el aislamiento repetido indica que están colonizadas intestinalmente y proporcionarán una considerable contaminación ambiental.

Mantener las cosas en perspectiva

EL Strep uberis es más a menudo de origen ambiental; sin embargo, puede haber una incursión de una cepa "vaca" en un rebaño y se pueden dar infecciones persistentes, y esas infecciones pueden comportarse de una manera contagiosa. La Epidemiología en un rebaño puede ser resumida solamente por su "comportamiento" basado en el reconocimiento y análisis de patrones de datos clínicos y de SCC.

Los rebaños que experimentan cepas de "vacas adaptadas" verán un incremento en la presencia de posibles infecciones persistentes (alta prevalencia de SCC en vacas) y la presencia de casos difíciles de tratar o repetitivos (por ejemplo: Strep uberis será cultivado a partir de casos repetidos o controles

post tratamiento por ejemplo, tomados de 7 a 10 días después del último tratamiento).

La importancia de la cepa de "vaca adaptada" a Strep uberis en un rebaño y el posterior comportamiento contagioso dependerá de la imagen del rebaño, que va a cambiar a lo largo del tiempo en función del equilibrio entre la eficacia de los procedimientos de gestión para limitar la propagación contagiosa (rutina de ordeño etc) y las tasas de éxito del tratamiento.

Los estreptococos ambientales uberis pueden a menudo originarse en el período seco y llevar a una mastitis en una lactancia temprana; también pueden invadir la ubre en lactancia, cuando una vez más pueden provenir de fuentes ambientales.

Las infecciones persistentes contagiosas (vaca adaptada) que ocurren de vaca a vaca son de mayor importancia y los casos ocurren durante la lactancia

Podemos diagnosticar Strep uberis por sus características?	
No vaca-adaptada	**Vaca-adaptada**
Gran cantidad de cepas	**Número limitado de cepas**
Enfermedad principalmente clínica	**Infección subclínica**
Menos repeticiones	**Con episodios clínicos**
Alta curación	**Baja curación**
Duración Corta	**Crónica**
No hay transmisión	**Contagiosa**
Todos los animales, incluyendo vacas secas	**Animales lactantes**
Higiene/inmunidad	**Plan de 5 puntos límita la propagación**

Preguntas que debemos preguntar acerca de un rebaño que sufre Strep uberis IMIs

¿En qué etapa de la lactancia se encuentran los casos clínicos que ocurren?

- Cuando sucenden los casos del indice (primer caso en lactancia) ?
  - o La lactancia temprana (por ejemplo, en el primer mes de lactancia) - origen del período presominantemente seco
  - o Posteriormente en la lactancia-de origen predominante de la lactancia
- Son difíciles de tratar los casos?
- Se repiten los casos?

A menudo se observa una "incursión" de Strep uberis que puede originarse en el medio ambiente, pero si la cepa es "vaca adaptadas" esto puede resultar en un "grupo" de episodios clínicos y nuevas sub-infecciones clínicas por propagación contagiosa.

Estrategias de control de gestión

Es importante enfocar los esfuerzos para reducir las tasas de nuevas infecciones en las áreas de gestión adecuadas.

Predominantemente de origen período seco

- Las cuestiones de gestión período de transición y seco en términos de higiene de las instalaciones ,la zona de parto y retirada de el ternera lejos del establo se vuelven importantes

Origen predominantemente de lactancia

- La rutina de ordeño, incluyendo pre-ordeño y desinfección de pezones post-ordeño así como tiempos de retraso en términos de primer toque para unidad y evitar que la distribución bimodal de flujo tenga más importancia.

No se olvide de los sistemas basados en el Pastoreo de pasto - ver hierba como lecho

Particularmente para las vacas secas donde la caza furtiva y la contaminación en prados secos pueden ser considerables y una potencial multiplicación bacteriana en el suelo pueden agregar problemas. "Acampando" debajo de los árboles buscando la sombra del sol (o la lluvia) pueden también exacerbar esto. La investigación ha demostrado que la separación de establos de vaca secas en 3 (usando un sistema simple como una valla eléctrica y recordando que el bebedero de agua debe ser accesible) y utilizando un sistema de rotación de "pastar 2 semanas y descansar 4" ayudan a reducir la mastitis particularmente en el comienzo de la lactancia. Esto debería impactar tanto la incidencia de mastitis por E.coli y Strep uberis.

Rotar las vacas lecheras alrededor de los sistemas de paddock es también importante para el control de la mastitis ambiental con un enfoque de a - moverse - rotar - pastar: evitando el pastoreo en el mismo pasto por más de 2 semanas.

La rutina de ordeño influye en las tasas de infección

Si las nuevas infecciones por Strep uberis durante la lactancia son un problema, entonces asegúrese de que la desinfección del puesto de ordeño no haya sido "ignorada" (puede ocurrir particularmente en rebaños con SCC baja con infecciones predominantemente ambientales) en favor de garantizar que la desinfección pre-ordeño de la tetina es eficaz. En rebaños con problemas de Strep uberis la desinfección del pezón tanto de pre y post ordeño puede ser importante.

La desinfección eficaz pre-ordeño (pre-inmersión, pulverización, espuma o toallitas medicinales) reduce la carga bacteriana en la superficie de la tetina y ayuda a reducir la tasa de nuevas infecciones por bacterias impulsadas a través del canal de la máquina de ordeño y las fluctuaciones de vacío que se aprecian especialmente al principio y final del ordeño cuando las cantidades son bajas y es más probable que ocurra el impacto. Evitar el el flujo bimodal (flujo bifásico) mediante la optimización de la rutina de ordeño y, en particular, el tiempo de preparación y retraso, también es importante para reducir las nuevas tasas de infección.

La eficaz desinfección posterior al ordeño tan pronto como cuando el grupo de post-inmersión, pulverización, espuma o sistemas automáticos como el lavado y la desinfección automática (ADF) o AirWash reduce la carga bacteriana en la superficie de la tetina y reduce la tasa de nuevas infecciones. Con vacas adaptadas es importante prevenir la propagación contagiosa de Strep uberis para reducir nuevas infecciones

RESUMEN

En rebaños con problemas de Strep uberis conocidos buscar:

- Las cepas adaptadas de vaca
- La incursión
- Propagación contagiosa
- Difíciles de tratar.
- Respuesta pobre
- Casos repetidos - a menudo justo cuando vas a volver a echar la leche al tanque!!

En mi opinión la tensión y cronicidad son los determinantes

más importantes de un resultado exitoso del tratamiento con la elección de fármaco y menos con los factores de la vaca (competencia inmune etc.).

Ahora sabemos que el Strep uberis es más comúnmente reconocido como causante de:-

- Clínicos- Repita frecuentemente los tests clínicos
- SCC's altas persistentes
- Infecciones persistentes que suelen ser resistentes al tratamiento
- Convertirse en vaca adaptado
- Invadir (internalizar) las células epiteliales mamarias
- Evitar los mecanismos de defensa de la ubre.
- Comportarse de una manera potencialmente contagiosa
- Requiere un tratamiento más agresivo / más prolongado

CONCLUSIÓN

Aunque el control general de la mastitis Strep uberis seguirá basándose en la premisa de que es un "patógeno de origen ambiental" mediante la optimización de la gestión de la higiene de las vacas en su entorno, ya sea en pastoreo o dentro de las instalaciones, así como en el área de ordeño, también es importante controlar la posible propagación contagiosa dentro del establo. Aunque fuera del ámbito de este documento, las tasas de éxito terapéutico son también fundamentales para el control de las cepas en "vacas adaptadas" como con cualquier patógeno de la mastitis contagiosa; y se pueden identificar vacas con infecciones Strep uberis como en cultivo agrícola para optimizar el protocolo de tratamiento y terapia extendida y/o terapia combinada cuando corresponda. Los IMIs de ("vaca adaptadas") con Strep uberis tratadas sin éxito aumentarán la prevalencia de los cuartos infectados por Strep uberis dentro de un rebaño lo que potencialmente pondrá en riesgo la propagación contagiosa aumentando aún más la prevalencia de Strep uberis dentro del rebaño. La importancia relativa de la propagación "entorno a vaca" y "vaca a vaca" variará entre rebaños de vacas y a lo largo del tiempo dentro de un rebaño.

Pensamientos futuros

Algún día podremos tener una sonda genética que identifique cepas con un "tabla de búsqueda" que indique el comportamiento probable de los distintos tipos de cepas aisladas de vacas dentro de un rebaño de modo que podamos probar la cepa predominante(s) de un rebaño de vacas para ver si las cepas adaptadas con probabilidades de infecciones persistentes y potencialmente contagiosas predominan la propagación o si el ambiente y la corta duración de las infecciones predominan en lugar de intentar explicar esto mediante el uso de análisis de patrones de datos clínicos y de SCC.

¿QUE HERRAMIENTA UTIL DE PLANIFICACIÓN Y VIGILANCIA SANITARIA SERÁ?

Esta información podría ser utilizada para la selección y optimización de protocolos de gestión pertinente, de control y de tratamiento. Por ejemplo, si predominaron las cepas de vacas adaptadas se podrán ajustar los protocolos de control de gestión de contagio, como por ejemplo guantes durante el ordeño y la optimización de la desinfección postordeño, mientras que si predominan cepas ambientales además de la higiene de las instalaciones se podría ser más estricto en (el manejo de pastizales) y desinfección pre-ordeño.

Métodos cepas candidatas incluyen:-

- El ribotipo
- RAPD (Random amplified polymorphic DNA]
- PFGE[electroforesis en gel de campo pulsado]
- MLST [mecanografía de secuencia de multi-locus]
- MALDI-TOF [MATRIX/Desorción de Ionización Láser Asistida - Tiempo De Vuelo]

ENGLISH VERSION

***Streptococcus uberis*: contagious, environmental, both? How to manage?**

Andrew Biggs

Vall Veterinary Group

What is Strep uberis?

Streptococcus uberis is the most important "environmental strep" around the developed world (USA, UK, NZ, AUS, EU, Canada). It impacts milk production, milk quality and animal welfare resulting in inefficient use of resources and may have risks of contributing to the worldwide concerns of antimicrobial resistance. It appears to be increasingly being identified in the dairy industry around the world and may indeed have a rising incidence.

A bit of history

Since its introduction in 1950s at a time when for example the UK national average herd SCC was around 500,000 cells per ml the NIRD 5 point plan has contributed to significant reductions in both clinical and sub-clinical mastitis around the world. At this time chronically infected cows with udder origin pathogens were common with often more infected cows than uninfected cows in a herd. Intramammary infections (IMIs) were predominantly gram positive bacteria such as Staph aureus and less commonly non-aesculin splitting Streptococci (Strep agalactiae). As efforts to improve milk quality resulted in reductions in the prevalence of chronically infected cows these persistent infections with gram positive bacteria such as Staph aureus and Strep agalactiae became less common and the average national SCC started to fall as a consequence. As environmental origin bacteria such as gram negative rods eg E.coli and faecal Streps such as Strep uberis assumed more importance and the prevalence and incidence of gram positive IMIs reduced the 5 point plan became less useful for continued improvements in mastitis control. This is because 3 of the 5 points include treatment and culling to remove existing infections which will have little effect on udder health impacts from environmental mastitis pathogens however those points could be beneficial where persistent udder adapted strains of for example Strep uberis are prevalent.

What do farmers and vets see with Strep uberis?

Clinical mastitis cases where some are easy to treat, some can be difficult to treat, some recur resulting in the common comment around the world "I treated the cow and all seemed to be going well until just before I was going to return her milk to the bulk tank when the mastitis came back again." These potential persistent Strep uberis infections can result in cows with high cell counts with the potential for contagious transmission.

Where does Strep uberis come from?

- Environmental origin

Used organic bedding acts as a potent source of Strep uberis in order of risk straw > sawdust > sand however pasture can

also be a risk especially set stock paddocks where a buildup of infection eg on bare pasture where cows shelter from either rain or sunshine under trees often termed "camping" results in high Strep uberis counts either as simple contamination or possibly multiplication.

In 2005 Zadoks *et al* screened a number of sources and found 63% of environmental samples to be positive for Strep uberis. More specifically 89% of soil, 64% of grazing matter, 42% of water and 23% of faecal samples were positive for Strep uberis. Other samples such as hay, flies, leaves and bedding (clean and used) were also found to yield Strep uberis however it was not found in haylage or non-farm environment.

In the farm environment Strep uberis was found on cows in the alimentary tract (lips, tonsils, rumen, rectum and faeces), respiratory tract, urogenital tract, infected wounds and abscesses, the coat of cattle, teat orifice, teat canal and teat skin as well as the more obvious source of infected mammary glands of cattle.

- Contagious origin

Contagious spread is more determined by the behaviour of a mastitis pathogen than its name.

Strains which have the ability to become persistent have to avoid or at least survive the mammary immune systems whose purpose is to eliminate them. Bacteria that can cause persistent IMIs because of these intramammary survival characteristics are often difficult to treat, give rise to recurrent mastitis cases and have an opportunity to spread in a contagious manner. Where oft regarded "environmental" pathogens exhibit persistent infections they are often termed "cow adapted" or" udder adapted"

Strep uberis strain typing evidence for:-	
Environmental origin infections	**Contagious origin infections**
High incidence of new infections in:-	**New infections during:-**
– Dry period	– **Lactation**
– Heifers	
Associated with a multitude of strains	**Few predominant strains**
NON CLONAL OUTBREAKS	**CLONAL OUTBREAKS**
	Chronic infections (high SCC)
	Difficult cases to treat
	Repeat flare ups

Poster British Mastitis Conference in 1996

My suspicions were first aroused in a small family farm where persistent Strep uberis infections (isolation of Strep uberis from cows with high SCCs) and recurrent difficult to treat Strep uberis clinical cases were observed in 1995/6 and a poster was presented at British Mastitis Conference in 1996.

"Strep uberis contagious or environmental? Do carrier cows pose a threat?" *Although some practitioners may consider they are seeing an increase in E.coli mastitis with occasional reports of quite alarming herd incidence of toxic mastitis in the authors experience it is Strep uberis that is filling the niche left by eliminating the more common major pathogens. Often herds experiencing problems with "carrier cows" are well managed herds with low BMSCCs (<200,000 cells per ml)*

Contagious spread in this herd was suspected when a) a few high SCC cows were identified with persistent Strep uberis infections with several in LF quarter, b) a number of Strep uberis clinical cases occurred within a short period in other cows with several in LF quarter and c) there was not only an increase in clinical mastitis rates but also several were difficult to cure and repeated

Are persistent Strep uberis infections "Bug factors" (Cow adapted strains) or Cow factors (immunotolerant cows) or both?

"Bug factors"

Strain variation in virulence appears in part at least to be linked to the ability to release nutrients from milk – ie an ability to grow rapidly, adhere and internalise and so overcome the flushing effect milking has on the intramammary population.

Strep uberis has a number tricks to survive in the intramammary environment including resisting phagocytosis sometimes with the help of a hyaluronic acid capsule and adhering and actively invading bovine epithelial cells which allows it to persist without harming host cells. Biofilm production can lead to dormancy and avoidance of the effects of antibiotics and immune defences. Also Strep uberis and neutrophils don't get on such that fewer pseudopodia are seen with neutrophils in presence of Strep uberis and they tend to "round up" and become less phagocytic and appear to be in some ways disabled.

"Cow factors"

Some cows appear to tolerate Strep uberis however there appears to be a normal humoral response in these tolerant cows so the failure to eliminate the bacteria is not due to an impaired humoral response however it is not clear why some cows seem to tolerate Strep uberis infections.

Early evidence of Strep uberis "carrier cows"

Available methods of strain typing in 1989 were able to show not only strain variation but also two biochemically distinct groups uberis and parauberis (the latter was thought to be non-pathogenic but has since been associated with infections in fish and was isolated from the spleen of a diseased olive flounder collected from an aquaculture farm in Jeju Island, South Korea, in 2006).

However such strain typing was not able to show a direct association between "carrier cows" and persistence of Strep uberis within a herd

PCR and PFGE fingerprinting (1996) have shown considerable variation in the ability of strains of Strep uberis to persist as IMIs. Strains found at dry off have been shown to persist through the dry period and even throughout the next lactation whilst others seemed to self-cure. Some strains found in early lactation persist throughout lactation whilst others are found to differ from those found at the subsequent drying off.

Comparative Intracellular survival

In vitro studies culturing Strep uberis and Staph aureus with mammary epithelial cells showed both Staph aureus and Strep uberis attach to and internalise bovine mammary epithelial cells. Staph aureus internalises more rapidly but causes host cell destruction damage and death which is a limiting factor for intracellular persistence. Strep uberis internalises less rapidly but does not cause extensive host cell destruction. In vitro studies culturing Strep uberis and epithelial cells showed some strains "internalise" epithelial cell quicker than others and are associated with more acute systemic mastitis, whilst some strains survive inside epithelial cells better than others and are

associated with more chronic persistent mastitis. The persistent Strep uberis tend to survive within the mammary epithelial cells for extended periods without affecting host cell viability and may be associated with spread to deeper tissues. It is not clear if the numbers of viable internalised bacteria in epithelial cells is more affected by the variation in their ability for intracellular growth (BUG FACTORS) or the variation in the effect on host killing mechanisms (COW FACTORS).

Strep uberis and "carrier" status

Although Strep uberis is primarily a pathogen of the mammary gland there are a few tenuous associations with bovine vaginitis, metritis, abortion, endocarditis and abscesses however the isolation of Strep uberis from the urogenital tract and gut is not random and is related to particular animals in the herd. These animals termed "CARRIER COWS" and may be responsible for the high levels of Strep uberis found on the bedding in some problem herds. "Carrier cows" are thought to maintain the pathogen within the herd. It has been shown that on any one occasion Strep uberis can be isolated from the rectum of around 5 to 7% of cows - intermittent shedders. In a small number of cows repeated isolation indicates they are intestinally colonised and will be providing considerable environmental contamination.

Keeping things in perspective

Strep uberis is most often of environmental origin however there can be an incursion of a "cow adapted" strain into a herd and persistent infections occur facilitating the potential for those infections to behave in a contagious manner. The epidemiology in a herd can only be surmised by its "behaviour" based on pattern analysis and recognition from clinical and SCC data.

Herd experiencing "cow adapted" strains will see an increase in the presence of potential persistent infections (prevalence of high SCC cows) and the presence of difficult to treat or repeat cases (ie Strep uberis will be cultured from repeat cases or post treatment checks for example taken 7 to 10 days after last treatment).

The importance of "cow adapted" strains of Strep uberis in a herd and subsequent contagious behaviour will depend on the herd picture which will change over time depending on the balance between the effectiveness of management procedures to limit contagious spread (milking routine etc) and treatment success rates.

ENVIRONMENTAL Strep uberis can often originate from the dry period and result in early lactation mastitis; it can also invade the udder in lactation when again it may originate from environmental sources.

CONTAGIOUS (cow adapted) persistent infections occur where cow to cow spread is of greater importance and cases occur throughout lactation

Can we diagnose Strep uberis by its characteristics?	
Non Cow-adapted	**Cow-adapted**
Large number of strains	**Limited number of strains**
Clinical disease mainly	**Subclinical infection**
Fewer repeats	**with clinical flare ups**
High cure	**Low cure**
Short duration	**Chronic**
No transmission	**Contagious**
All animals including dry cows	**Lactating animals**
Hygiene/immunity	**5-point plan limits spread**

Questions to ask about a herd suffering from Strep uberis IMIs

What stage of lactation are clinical cases occurring?

- When are the index cases (first case in lactation) occurring?
  - o early lactation (say in the first month of lactation) - predominantly dry period origin
  - o later in lactation - predominantly lactation origin
- Are cases difficult to treat?
- Are repeat cases occurring?

Often an "incursion" of Strep uberis is seen into the milking herd which may originate from the environment but if the strain is "cow adapted" this can then result in a "cluster" of clinical episodes and new sub-clinical infections by contagious spread.

Management control strategies

It is important to target efforts to reduce new infection rates in the right areas of management.

Predominantly dry period origin

- issues of dry and transition period management in terms of hygiene of housing and calving area and removal of calf away from the dam become important

Predominantly lactation origin

- milking routine including pre-milking and post-milking teat disinfection as well as prep-lag times in terms of first touch to unit on and avoiding bimodal flow take on more significance.

Don't forget pasture based systems - view grass as bedding

Particularly for the dry cows where poaching and contamination in dry paddocks can be considerable and potential bacterial multiplication on the ground can add to the problems. "Camping" under trees for shade from sun (or rain) can also exacerbate this. Research has shown that splitting dry cow paddocks into 3 (using a simple system such as an electric fence and remembering the water trough must be accessible) and utilising a "graze 2 weeks and rest 4 weeks rotation" help reduce mastitis particularly in early lactation. This should impact both E.coli and Strep uberis mastitis incidence.

Rotating milking cows around paddock systems is also important for environmental mastitis control with a - move on - rotate - strip graze - approach and avoiding grazing the same pasture for more than 2 weeks.

Milking routine influences on infection rates

If Strep uberis new infections during lactation are an issue then ensure post milking disinfection has been not been "neglected" (which can happen particularly in low SCC herds with predominantly environmental infections) in favour of ensuring pre-milking teat disinfection is effective. In herds with Strep uberis problems both pre and post milking teat disinfection can important.

Effective pre-milking disinfection (pre-dipping, spraying, foam or medicated wipes) reduces the bacterial load on teat surface and helps reduce the new infection rate from bacteria driven through the streak canal by the milking machine and vacuum fluctuations seen particularly at the beginning and end of milking when flow rates are low and impacts are more likely to occur. Avoidance of bimodal flow (biphasic flow) by optimising the milking routine and in particular the prep-lag time is also important in reducing new infection rates.

Effective post milking disinfection as soon as cluster comes off by post-dipping, spraying, foam or automatic systems such as

Automatic Disinfection and Flushing (ADF) or AirWash reduces the bacterial load on teat surface and reduces the new infection rate. With cow adapted Strep uberis preventing contagious spread is important in reducing new infections

SUMMARY

In known Strep uberis problem HERDS look for:-

- Cow adapted strains
- Incursion
- Contagious spread
- Difficult to treat
- Poor response
- Repeat case - often just as milk about to be returned to tank!!

In my opinion strain and chronicity are the most important determinants of a successful outcome of treatment with treatment drug choice and cow factors (immune competence etc) less so.

We now know Strep uberis is more commonly being recognised as causing:-

- Clinicals - often repeat clinicals
- Persistent high SCC's
- Persistent infections which are often resilient to treatment
- Becoming cow adapted
- Invading (internalising) mammary epithelial cells
- Avoiding defence mechanisms of udder
- Potentially behaving in a contagious manner
- Requiring more aggressive / extended treatment

CONCLUSION

Although general control of Strep uberis mastitis will still be based on the premise that it is an "environment origin pathogen" by optimising the hygienic management of cows in their environment whether that be at pasture or within housing as well as within the milking parlour it is also important to control the potential contagious spread within the parlour. Although outside the remit of this paper treatment success rates are also critical in the control of "cow adapted" strains as they are with any contagious mastitis pathogen and diagnostics to identify cows with Strep uberis infections such as on farm culture can be used to optimise treatment protocols and target extended and or combination therapy where appropriate. Unsuccessfully treated ("cow adapted") Strep uberis IMIs will increase the prevalence of Strep uberis infected quarters within a herd which will potentially risk contagious spread further increasing the prevalence of Strep uberis within the herd. The relative importance of "environment to cow" and "cow to cow" spread will vary from herd to herd and over time within a herd.

Future thoughts

One day we may have a genetic probe identifying strains with a "look up table" indicating likely behaviour of various strain types isolated from cows within a herd so we can test the predominant strain(s) from a herd to see if cow adapted strains with likely persistent infections and potentially contagious spread predominate or if environmental and short lived infections predominate rather than trying to imply this by using farm clinical and SCC data pattern analysis.

WHAT A USEFUL HEALTH PLANNING SURVEILLANCE TOOL THAT WILL BE

This information could then be used for targeting and optimisation of the relevant management, control and treatment protocols. For example if cow adapted strains predominated then contagious management control protocols could be tightened up eg wearing gloves during milking and optimising post milking disinfection whereas if environmental strains predominated then hygiene of housing (or pasture management) and pre-milking disinfection could be tightened up.

Candidate strain typing methods include:-

- Ribotyping
- RAPD [Random amplified polymorphic DNA]
- PFGE [Pulsed-field gel electrophoresis]
- MLST [Multi-locus sequence typing]
- MALDI-TOF [Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight]

GESTIÓN DE LA GRANJA Y PROCESAMIENTO PARA OPTIMIZAR LA CALIDAD DE LA CARNE DE TERNERA PARA EL CONSUMO

Dr Rod Polkinghorne OAM

Birken
Birkenwood PtyLtd

La Introducción del sistema de clasificación de la carne para el consumo conocido como el Meat Standards Australia (MSA) ha dado lugar a un cambio significativo tanto a nivel de granja y de procesamiento a medida que han aumentado las primas para el ganado clasificado como MSA. La participación en el programa MSA es totalmente voluntaria, pero ha crecido significativamente en respuesta a incentivos financieros. En los últimos años el cumplimiento del MSA ha estado vinculado a menudo con problemas de procedencia basados en procesadores o marcas minoristas, tales como problemas con la raza, "free range" o sin antibióticos ya que los procesadores han desarrollado marcas especiales, utilizando el sistema de clasificación como un medio para garantizar la satisfacción del consumidor buscando más diferenciación a través de la procedencia.

Los lugares de compra de ganado tradicionales han estado relacionados predominantemente con el peso en canal, el sexo, la dentición, y criterios de profundidad de la grasa. El gran foco de exportación de la industria Australiana, superior al 70%, a menudo agrega la elegibilidad del mercado como un impulsor de mayor valor. La elegibilidad para la UE requiere el registro de granjas y prohíbe el uso de implantes hormonales como ejemplo. La clasificación MSA ha crecido drásticamente durante 20 años y se ha convertido en un componente importante del precio del ganado. Para una producción eficiente a largo plazo es necesario un equilibrio entre el rendimiento y la calidad de consumo, idealmente recompensados por la transparencia de los mecanismos de fijación de precios basados en el valor.

El potencial tanto del rendimiento como para la calidad se establece en el momento de la concepción, y se erosiona posteriormente por todas las acciones de forma que el valor final de la carne en canal requiere concentración y selección genética y la posterior gestión a través de cada segmento de la cadena de suministro.

En Australia los incentivos MSA han provocado unos cambios importantes en la genética. La industria del norte de Australia se centró principalmente en ganado de alto contenido de Brahman debido a su robustez en un entorno muy difícil y su resistencia a las garrapatas. Las primeras investigaciones de la MSA establecieron que un mayor número de estaba asociado con mayor dureza en muchos músculos, lo que resultó en una menor predicción de la calidad de la alimentación y de las puntuaciones de la MSA. La respuesta a lo largo del tiempo y después de una feroz reacción inicial al sistema de calificación que discriminaba el ganado Brahman ha sido una reducción en el porcentaje de bos-indicus en los rebaños del norte con un retroceso del 50% o 25% cuando esto era suficiente para controlar el medio ambiente. A menudo esto ha redundado también en mejorar la fertilidad ofreciendo una ventaja adicional. El uso de razas tropicales adaptadas como Senepol y Bonsmara ha aumentado también a medida que aumentó el equilibrio económico desarrollado entre los rasgos importantes de la fecundidad, la supervivencia y el potencial de la calidad de consumo. En los casos en los que se juzgó que el ganado se ajustaba mejor al sistema de producción, el marketing se ha trasladado a ganado vivo donde el precio de exportación no se ve afectado.

Los índices y la selección de los progenitores también han visto un cambio hacia un mayor veteado y a las razas como Angus o Shorthorn asociadas a la mejora de la calidad de los resultados en la alimentación. El uso de los tipos de madurez anteriores, pero no extremos, ha aumentado también para facilitar la capacidad de acabar en una composición óptima de canal, peso y cobertura de grasa para maximizar el cumplimiento y el valor. Dentro de la madurez deseada, la mejora genética en la tasa de crecimiento y el veteado siguen siendo objetivos importantes con el advenimiento de la predicción genómica y las estimaciones de múltiples razas que se espera lleven a un nuevo ciclo de mejora.

También ha habido una reacción sustancial a las investigaciones subsiguientes de la MSA, que establece una reducción de la calidad de alimentación mediante el uso de implantes de hormona de crecimiento (HGP), que se utilizan a menudo en rebaños del norte y en los corrales de producción de engorde. Nuevamente hubo una gran controversia entre proveedores y usuarios de los productos que reaccionaron contra la imposición de un descuento de la calidad, pero la industria, para su gran crédito, mantuvo el principio original de la MSA de colocar al consumidor, a menudo representado en las reuniones por una silla vacía, primero, y aplicar ajustes de calidad alimentarios directamente en línea con los resultados de investigaciones obtenidos de pruebas de consumidores. De nuevo un equilibrio económico impulsa la decisión sobre el uso de implantes con ventajas en los resultados y el grado de calidad de consumo, y la elegibilidad de mercado pesaban contra el crecimiento y la reducción de peso en canal, especialmente en sistemas de granjas de engorde donde los implantes son utilizados habitualmente en el comercio interno de ganado pesado donde el veteado no es necesario, pero no se utiliza en la exportación de ganado, a menudo Wagyu y Angus, donde el veteado es un criterio importante. Se requiere una declaración del productor relacionada con el uso o no de hormonas de crecimiento junto con declaraciones sobre el cumplimiento de retención de drogas y alimentos para establecer la elegibilidad del mercado para todos los animales sacrificados, y el estado HGP es un elemento de la clasificación de la MSA.

La investigación de la MSA ha resultado en el modelo de predicción que estima los puntos de corte más altos para el ganado que tiene un mayor peso de canal en relación con la puntación de osificación. La osificación esquelética es una medida de madurez más que de edad y se ha encontrado que refleja un crecimiento negativo o eventos de estrés como la enfermedad o el parto. En consecuencia se ha demostrado en el ganado joven ser superior a la edad real como un elemento de calidad alimentaria. Bonny et.al (2015), en un estudio de datos de protocolo MSA testeó ganado europeo e informó que cuando la osificación está por debajo de 200 y la edad menor de 2 años, la osificación tuvo una mayor calidad comestible que la edad, que se convirtió en un mejor predictor en edades más

avanzadas cuando la osificación alcanzó la máxima puntuación de 590. La clasificación de la dentición tradicional de Australia (y Nueva Zelanda, Sudamérica y Sudáfrica) demostró tener una relación mucho peor con la calidad de la alimentación que la edad y la osificación.

La superior calidad de consumo que viene de la mejora del crecimiento y del peso en relación a la edad y la madurez, ha llevado también a cambios de gestión a la vez que los productores buscan de nuevo un equilibrio comercial. Muchas propiedades del norte han desarrollado extensas cadenas de abastecimiento donde rebaños reproductoras son gestionadas en las zonas más áridas o difíciles, pero los terneros son destetados más jóvenes y son trasladados a propiedades especializadas en crecimiento con una alimentación superior y, en general, de estos a un corral de engorde ubicado cerca del matadero y en las principales zonas de cultivo. En muchos casos esto ha transformado la cabaña de ganado de entre 3 y 4 años de edad que eran bueyes alimentados con pasto que tenían normalmente ciclos estacionales de ganancia y pérdida peso a ganado de calidad superior de peso similar pero de 2 años o menos. Esto ha mejorado la eficiencia de la producción y la calidad de la carne de consumo con el consiguiente beneficio económico.

En las regiones meridionales más templadas se ha prestado más atención a maximizar la tasa de crecimiento para reducir la edad de sacrificio y maximizar los resultados MSA. En muchos casos esto ha impactado en la alimentación durante el invierno o a través de las malas temporadas y ahora es más probable que el productor les de alimentación complementaria en lugar de tener periodos de crecimiento bajo o negativo. La importante pérdida de ingresos al no mantener un pH superior a 5.7 también ha renovado el enfoque en el “dark cutting” y en la importancia tanto de los factores nutricionales y de gestión, incluyendo la manipulación antes de la venta y el transporte.

En los principales estudios de la MSA relacionados con el transporte, desde los trayectos por carretera de 12, 24 y 36 horas en el norte, y con el transporte marítimo con control de combinaciones de mezcla y reposo en el sur, las explotaciones han sido siempre consistentemente más significativos y de mayor impacto que el tiempo de transporte. Esto indica que la gestión en las granja, posiblemente alineado con la influencia del temperamento genético, es fundamental en la preparación del ganado para el sacrificio. Las prácticas como el destete de campo, la manipulación de stock con bajo estrés durante las prácticas de carga y transporte tienen un impacto directo, y se está realizando una extensa labor en busca de posibles indicadores de estrés de los animales individuales incluyendo temperatura FLIR y el escaneo de la retina para evaluar el ritmos cardiaco y respiratoria. La velocidad de vuelo medida 2 semanas antes del sacrificio ha mostrado una moderada relación negativa a “dark cutting” y a la calidad de la alimentación, indicando que el temperamento es importante.

En total, los productores en las diferentes regiones y con diferentes sistemas de producción se han vuelto mucho más centrados en los requisitos de calidad comestible y las necesidades del mercado. Un factor importante ha sido el requisito obligatorio de proporcionar “feedback”. Todos los datos de entrada de clasificación - peso en canal, profundidad de grasa en la costilla, altura de la joroba (usado para la verificación cruzada de Bos indicus%), el sexo, veteado, osificación y pH - junto con la grasa P8 (nalgas), la dentadura, el color de la carne y el color de la grasa que no se utilizan en los cálculos de clasificación, deben ser suministrados al proveedor para cada canal, junto con un valor de índice MSA para el ganado con clasificación MSA. El índice es esencialmente una sola medida para predecir la calidad comestible que es el resultado final de la genética, de la salud del animal, el uso de implantes, tasa de crecimiento y el peso en madurez que proporcionan un estándar nacional de referencia para medir el rendimiento. La educación y la extensión de los productores MSA han sido sustanciales tanto de forma presencial como a través de la web y aumentó la interactividad y la comunicación entre el procesador y el proveedor. El productor de ganado australiano comprende ahora que él o ella están produciendo comida con calidad crítica para ofrecer valor al consumidor y que afectan directamente a sus ingresos. Este aumento de la conciencia de la importancia del consumidor por parte de los productores ha sido uno de los grandes beneficios del MSA.

Los procedimientos de los mataderos también han mejorado sustancialmente en respuesta a los resultados de calidad a la vez que han sido impulsados por una gran cantidad de requisitos relacionados con el mercado. La entrega de un animal calmado a la zona de sacrificio es un punto de partida importante que influye e interactúa con la biología posterior en las 24 horas de la conversión del músculo vivo en carne. Los niveles de glucógeno se relacionan directamente con el PH final, y también con la tasa de disminución del pH. Si el glucógeno inicial es demasiado bajo, el pH final será demasiado alto y el resultado serán pérdidas sustanciales a través de ventas con descuento y la exclusión del MSA. Esto ha centrado la atención en la gestión previa al transporte incluyendo las prácticas de concentración, mantenimiento y carga, el recorrido y equipo de transporte y las prácticas de recepción y manipulación en el matadero.

Se han producido importantes cambios en el diseño y la gestión de la estabulación y con el personal de estabulación capacitado en el manejo de stock bajo estrés y se han mejorado las instalaciones para ayudar en el flujo de ganado. En Australia el ganado es lavado antes del sacrificio lo que resulta en una mayor manipulación. Ahora se presta mucha más atención a las superficies del suelo para minimizar el deslizamiento y reducir el riesgo de hematomas. El uso de picadores eléctricos ha sido reducido drásticamente y la manipulación ha mejorado con dos ventajas en la calidad de la carne y los criterios de bienestar animal. Cuando el ganado es retenido durante la noche se ha prestado mayor atención al pavimento blando, el suministro de agua limpia, alimento y hasta la retención de ganado en sus grupos originales sin mezclar.

Se consideran muy importantes los procedimientos de aturdimiento a todos los efectos sobre la calidad de alimentación con la relación entre el pH y la disminución de la temperatura. MSA han ordenado una “ventana” de mataderos que requiere el lomo pH6 sea conseguido a una temperatura inferior a 35 °C y por encima de 12˚C para prevenir los efectos perjudiciales del endurecimiento de extremos de calor y acortamiento por el frío. El endurecimiento térmico puede producir condiciones PSE (pálida, blanda y exudativa) y reducir el potencial de envejecimiento debido a autolisis enzimática, mientras que el acortamiento en frío produce una extrema e irreversible dureza. El rango óptimo de ventana está considerado como de 20 a 25˚C, que puede ser difícil de lograr en la práctica.

El ganado alimentado de grano pesado normalmente tiene altos niveles de glucógeno y un pH de muy rápido declive que, junto con el enfriamiento lento debido a un mayor peso y mayor cobertura grasa, puede promover el acortamiento por calor. Las medidas para prevenir esto incluyen la reducción de las entradas eléctricas, restrictores como grilletes, estimuladores

eléctricos y las sondas de rigidez de la espalda utilizadas en muchos extractores de cuero. La modificación de la frecuencia eléctrica puede aumentar o disminuir el efecto. Los efectos de aturdimiento eléctrico, poco común en Australia, es menos conocido pero se ha observado que aumenta el descenso de pH en algunas circunstancias. En el otro extremo el ganado alimentado con pasto liviano y poco graso es susceptible al acortamiento en frío y puede requerir estimulación eléctrica y regímenes de enfriamiento más suaves para permanecer dentro de la ventana.

La investigación MSA también ha cuantificado un considerable efecto de calidad de consumo de la suspensión alternativa de la carne en canal. Las variaciones del impacto de la suspensión del hueso de la cadera o el impacto por hipersustentación afectan la puntuación inicial de la calidad comestible de los músculos individuales y también interactúa con el potencial de envejecimiento y su velocidad. La mayoría de los músculos más grandes y de alto valor de los músculos del cuarto trasero mejoran por la hipersustentación, con las excepciones de una pequeña disminución para el lomo y la cola de la rabadilla. Por lo tanto se puede mejorar la calidad del consumo y lograr un estándar con un tiempo de envejecimiento si se adopta el estiramiento por hipersustentación. Una vez más las consideraciones de la planta individual incluyendo la separación de los carriles de enfriamiento interactúan con posibles aumentos de valor en las decisiones comerciales.

Cada músculo tiene un potencial de calidad de consumo diferente y es impactado diferencialmente por las distintas clasificaciones y por el posterior envejecimiento y cocinado. Para optimizar la calidad de la ingesta y el valor potencial para el consumidor, se procedió al deshuesado y corte hasta conseguir porciones de músculo de una calidad de consumo uniforme. Esto fomentaría el desglose de muchos cortes tradicionales a componentes musculares y modificaría algunas líneas de corte. Además, el envejecimiento sería específico del músculo, de modo que las porciones con bajo potencial de envejecimiento como el lomo no se mantendrían con aquellos con alto potencial como el solomillo que sería retenido más tiempo para alcanzar su potencial de calidad de consumo. Las porciones serían asignadas a un método de cocción que proporcionaría los mejores resultados y aumentaría el valor potencial para los consumidores mediante el aumento de la satisfacción. Lógicamente, esto llevaría a una descripción basada en el resultado de la comida cocinada en lugar de los cortes tradicionales y resultaría en porciones de calidad de consumo equivalente, pero que provienen de diferentes músculos, que se combinarán para el embalaje y su utilización como una línea de producto basada en el consumidor o como materia prima para la producción de comidas listas para comer.

Los resultados MSA han alentado a la industria a avanzar hacia este ideal teórico, pero por lo general comenzaron con una concentración en los cortes de parrilla tradicionales de alta calidad. A medida que han aumentado se han comercializado más cortes como alternativas respaldadas por la calidad MSA pero todavía queda mucho margen para una mayor optimización. Un proyecto comercial piloto que adoptó con éxito muchos de los principios discutidos fue reportado por Polkinghorne et.al (2008).

Las restricciones en muchas plantas se refieren a la necesidad de deshuesar a los cadáveres en lotes, donde se pierde la identificación del corte individual en la entrada de la sala de deshuesado. La MSA y la industria han desarrollado sistemas para clasificar los cadáveres en lotes de calidad similar para el deshuesado, que es el enfoque actual típico, pero una mayor sofisticación y trazabilidad del corte individual ofrece un potencial considerable para reducir la variabilidad y aumentar el rendimiento.

Investigaciones recientes de la MSA han confirmado un efecto perjudicial importante para la calidad de los alimentos causado por el envasado al vacío con alto contenido de oxígeno, utilizado para proporcionar una apariencia atractiva de minorista en muchos de los principales minoristas. Esto ha llevado a una recomendación de que se aplique una penalización a la calidad de consumo del producto empacado con HiOx MAP, continuando con la práctica de adaptar y desarrollar la predicción de clasificación para reflejar las preferencias del consumidor.

El programa ha generado importantes cambios positivos en la industria australiana a lo largo de un período de 20 años y ha resultado en beneficios adicionales en todos los sectores. Se han estimado unos ingresos anuales adicionales de alrededor de 150 millones de dólares que van a parar a los productores de ganado que suministran del orden de 3 millones de cabezas de ganado con clasificación MSA por año. El cambio significativo en la sensibilización del consumidor y la acción para mejorar la consistencia del producto y el valor del consumidor es fundamental para la supervivencia de la industria.

Una investigación similar y una aplicación inicial indican que el enfoque es igualmente relevante en otros países. Existe un potencial considerable para simplificar aún más la descripción comercial mediante la transición del corte tradicional descrita hacía la descripción de la comida final en la cual un estilo de cocinado determinado se puede asociar directamente con una comida final garantizado para cada ocasión. Se espera que esto ofrezca mayor valor al consumidor, pero igualmente se enfrenta a la tradición de larga duración que será un reto para su aprobación. Se puede obtener una mejora significativa en la eficiencia de la industria mediante el desarrollo de sistemas de comercio basados en valores transparentes en los que el rendimiento real de canales individuales y los parámetros de calidad alimentaria se relacionan directamente con el pago individual de los animales. La introducción exitosa proporcionaría enormes incentivos para mejorar la oferta de ganado, pero requiere una transición hacia una cultura de industria de colaboración más “abierto” que la tradicional posición de mayor confrontación.

Se ha logrado mucho y queda mucho por hacer. El futuro está en nuestras manos, pero podemos ver un apasionante camino hacia adelante.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonny SPF, Pethick DW, Legrand I, Wierzbicki J, Allen P, Farmer LJ, Polkinghorne RJ, Hocquette JF and Gardner GE 2016d. Ossification score is a better indicator of maturity related changes in eating quality than animal age. Animal 10, 718–728
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008. Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1451-1458

ENGLISH VERSION ▾

Farm and Processing Management to optimise beef Eating Quality

Dr Rod Polkinghorne OAM

Introduction of the Meat Standards Australia (MSA) eating quality grading system in Australia has led to significant change at both farm and processing level as premiums for MSA graded cattle have grown. MSA program participation is entirely voluntary but has grown significantly in response to financial incentives. In recent years MSA compliance has often been linked to further processor or retail brand based provenance issues such as breed, free range or antibiotic free as processors have developed proprietary branding using the grading system as a means to guarantee consumer satisfaction and sought further differentiation though provenance claims.

Traditional livestock purchasing grids have predominantly been yield related with carcase weight, sex, dentition and fat depth criteria. The large, greater than 70%, export focus of the Australian industry often adds market eligibility as a further value driver with EU eligibility requiring farm registration and prohibiting the use of hormone implants as an example. MSA grading has grown dramatically over 20 years and become an important component of cattle payment. For long term efficient production a balance is required between yield and eating quality, ideally rewarded by transparent value based pricing mechanisms.

The potential for both yield and eating quality is set at conception, and steadily eroded by all action thereafter so that ultimate carcase value requires both concentration on genetic selection and subsequent management through each segment of the supply chain.

In Australia MSA incentives have triggered substantial changes in genetics. The Northern Australian industry was heavily focussed on high Brahman content cattle due to their hardiness in a very tough environment and tick resistance. Early MSA research established that higher content was associated with increased toughness in many muscles resulting in lower eating quality prediction and associated MSA scores. The response over time, and after an initial fierce reaction to the grading system discriminating against Brahman cattle, has been a reduction in % across northern herds with scaling back to 50% or 25% where this was sufficient to manage the environment. This has often also resulted in improved fertility delivering a further benefit. The use of tropically adapted breeds such as Bonsmara and Senepol has also increased as an economic balance evolved between the important traits of fertility, survival and eating quality potential. Where a judgement was made that high cattle best met the production system marketing has often moved to live export where price is unaffected.

Sire selection indexes and selection has also seen a shift toward higher marbling and to breeds such as Angus or Shorthorn associated with improved eating quality outcomes. The use of earlier, but not extreme, maturity types has also increased to facilitate the ability to finish at an optimal carcase composition, weight and fat cover to maximise grading compliance and value. Within the desired maturity genetic improvement in growth rate and marbling remain important goals with the advent of genomic prediction and multi-breed estimates expected to deliver a new cycle of improvement.

There has also been substantial reaction to further MSA research that established an eating quality reduction through the use of hormone growth implants (HGP) which are often used in Northern herds and in feedlot production. Again there was widespread controversy from the product suppliers and users reacting against the imposition of an eating quality discount but the industry, to its' great credit, maintained the original MSA tenet of placing the consumer, often represented at meetings by an empty chair, first, and applied eating quality adjustments directly in line with consumer tested research outcomes. Again an economic balance drives the decision on implant use with advantages in eating quality grade outcomes and market eligibility weighed against growth and carcase weight reduction, particularly in feedlot systems where implants are typically used in domestic trade cattle where heavy marbling is not required but not used in export cattle, often Wagyu and Angus, where marbling is an important criteria. A producer declaration relating to the use or otherwise of growth hormones together with declarations on drug withholding compliance and feedstuffs to establish market eligibility, is required for all slaughter cattle with the HGP status an MSA grading input.

MSA research has resulted in the prediction model estimating higher cut scores for cattle that have greater carcase weight relative to their ossification score. Skeletal ossification is a maturity rather than age related measure and has been found to reflect negative growth or stress events such as sickness or calving. Consequently in young cattle it has been found to be superior to actual age as an eating quality input. Bonny et.al (2015), in a study of data from MSA protocol tested European cattle, reported that at ossification below 200 and age below 2 years ossification had a stronger eating quality association than age which became a better predictor at older ages as ossification reached the maximum 590 score. The traditional Australian (and New Zealand, South African and South American) dentition classification proved to have a much poorer relationship to eating quality than both age and ossification.

The superior eating quality result from improved growth and weight for age/maturity has also led to management changes as producers again seek a commercial balance. Many extensive northern properties have developed supply chains where breeding herds are managed in the more arid or difficult country but calves are weaned younger and transferred to specialist growing properties with superior feed supply and generally from these to a feedlot located closer to the abattoir and within major cropping zones. In many cases this has transformed the cattle turned off from 3 and 4 year old grass fed bullocks that typically had seasonal cycles of weight gain and loss to higher quality cattle of similar weight but 2 years old or less. This has improved production efficiency and meat eating quality with resultant higher return.

In the more temperate southern regions more attention has been directed to maximising growth rate to reduce age at slaughter and maximise MSA outcomes. In many cases this has impacted feeding during winter or through poor seasons with the grower now more likely to supplementary feed or feedlot than to allow periods of low or negative growth. The significant revenue loss through failing to grade due to a pH above 5.7 has also renewed focus on dark cutting and the importance of both nutritional and management factors including handling prior to sale and transport.

In major MSA research studies involving transport ranging from road journeys of 12, 24 and 36 hours in the north and sea transport with controlled combinations of mixing and resting in the south farm has consistently been significant, and of greater impact than the transport time. This indicates that on-farm management, possibly aligned with genetic temperament influences, is critical in preparing cattle for slaughter. Practices such as yard weaning, low stress stock handling during yarding and loading practices have a direct impact with extensive work currently being pursued seeking potential individual animal stress indicators including FLIR temperature and retinal

scanning for heart and respiration rate. Flight speed measured 2 weeks prior to slaughter has shown a moderate negative relationship to dark cutting and eating quality indicating that temperament is important.

In all, producers across the many very different production regions and systems have become far more focussed on eating quality and on market requirements. A major factor has been the mandatory requirement for "feedback". All grading input data – carcase weight, rib fat depth, hump height (used to cross check bos-indicus%), sex, marbling, ossification and pH - together with P8 (rump) fat, dentition, meat colour and fat colour not used in grading calculations must be provided to the supplier for each carcase together with an MSA Index value for MSA graded cattle. The index is essentially a single measure of predicted eating quality that is the end result of genetics, animal health, implant use, growth rate and weight for maturity that provides a standard national benchmark to measure performance. There has been substantial MSA producer education and extension both face to face and through web based access and increased processor to supplier interaction and communication. The Australian cattle producer now understands she or he is producing meals with quality critical to providing consumer value and directly affecting their return. This increased consumer awareness from the farm forward has been a major and pleasing by product of MSA development.

Abattoir procedures have also substantially improved in response to eating quality outcomes while also being driven by a plethora of market related requirements. Delivery of a calm animal to the knocking area is an important starting point that influences and interacts with subsequent biology in the 24 hour conversion of living muscle to meat. Glycogen levels directly relate to the ultimate pH but also to the rate of pH decline. If initial glycogen is too low then ultimate pH will be too high resulting in substantial losses through discounted sales and exclusion from MSA. This has focussed attention on both pre-transport management including mustering, holding and loading practices, the transport journey and equipment and on receival practices and handling at the abattoir.

Significant changes have occurred in lairage design and management with lairage staff being trained in low stress stock handling and facilities improved to assist in livestock flow. In Australia cattle are washed prior to slaughter resulting in further handling. Far greater attention is now paid to floor surfaces to minimise slipping and reduce the risk of bruising. The use of electric prodders has been dramatically reduced and handling improved with dual benefits in meat quality and animal welfare criteria. Where cattle are held overnight more attention has been given to soft flooring, provision of clean water, feed and to retaining cattle in their original groups without mixing.

Procedures from stunning on all impact on eating quality with the relationship between pH and temperature decline considered very important. MSA have mandated an "abattoir window" that requires loin pH6 to be achieved at a temperature below 35˚C and above 12˚C to prevent the detrimental extremes of heat toughening and cold shortening. Heat toughening can produce PSE (pale, soft and exudative) conditions and reduced ageing potential due to enzyme autolysis whereas cold shortening produces extreme and irreversible toughness. The optimum window range is regarded as 20 to 25˚C which in practice can be difficult to achieve.

Heavy grain fed cattle typically have high glycogen levels and a very quick pH decline which, coupled with slow chilling through heavier weight and increased fat cover, can promote heat shortening. Measures to prevent this include reducing electrical inputs such as restrainers for shackling, electrical stimulators and back stiffening probes used on many hide pullers. Modification of electrical frequency can increase or decrease the effect. The impact of electrical stunning, uncommon in Australia, is less understood but observed to increase pH decline in some circumstances. At the other extreme light weight grass fed cattle with low fat cover are susceptible to cold shortening and may require electrical stimulation and softer chill regimes to remain within the window.

MSA research has also quantified a substantial eating quality effect from alternative carcase suspension. Variations of hip bone suspension or tenderstretch impact the initial eating quality score of individual muscles and also interact with ageing potential and rate. A majority of larger and high value hindquarter muscles are improved by Tenderstretch, the exceptions being a minor decrease for tenderloin and the rump tail. Consequently eating quality can be improved and a standard achieved at reduced ageing time if tenderstretch is adopted. Again individual plant considerations including chiller rail spacing interact with potential value increases in commercial decisions.

Each muscle has different eating quality potential and is differentially impacted by the various grading inputs and by subsequent ageing and cooking. To optimise eating quality and potential consumer value deboning and trimming would continue until uniform eating quality muscle portions were created. This would encourage the breakdown of many traditional cuts to component muscles and modify some cutting lines. Further, ageing would be muscle specific so that portions with low ageing potential such as tenderloin would not be held where those with high potential such as striploin would be retained longer to reach their eating quality potential. Portions would be further assigned to a cooking method that provided the best outcome and potential consumer value through increased satisfaction. Logically this would lend to description based on cooked meal outcomes rather than to the original traditional cut and lead to portions of equivalent eating quality, but derived from different muscles, to be combined for packing and utilisation as a uniform consumer based product line or as a raw material for ready to eat meal production.

MSA outcomes have encouraged industry to progress some way toward this theoretical ideal but typically started with a concentration on the traditional high quality grilling cuts. As market prices have risen further cuts have been marketed as alternatives supported by MSA predicted quality but much room remains for further optimisation. A pilot commercial project that successfully adopted many of the principals discussed was reported by Polkinghorne et.al (2008).

Restrictions in many plants relate to the need to bone carcasses in batches where individual cut identification is lost at boning room entry. MSA and the industry have developed systems to sort carcasses into batches of similar quality for boning which is the typical current approach but further sophistication and individual cut traceability offers considerable potential for reducing variability and increased return.

Recent MSA research has confirmed a substantial detrimental eating quality effect from high oxygen vacuum packaging, utilised to provide attractive retail appearance in many major retailers. This has led to a recommendation that an eating quality penalty be applied to HiOx MAP packed product continuing the practice of adapting and developing the grading prediction to mirror consumer outcomes.

The program has generated substantial positive change in the Australian industry over a 20 year period and delivered additional returns to all sectors. Additional annual revenue of around $150 million has been formally estimated to be delivered to cattle producers who supply in the order of 3 million head of MSA graded cattle per year. The significant change in consumer awareness and action to improve product consistency and consumer value is fundamental to industry survival.

Similar research and initial application indicates that the approach is equally relevant in other countries. Considerable potential exists to further simplify retail description by transitioning from traditional cut description to a meal result framework where a desired cooking style can be directly associated with a guaranteed cooked meal outcome to suit any occasion. This is expected to deliver improved consumer value but equally confronts long held tradition which will challenge adoption. Further significant improvement in industry efficiency can be gained by developing transparent value based trading systems where actual individual carcase yield and eating quality parameters directly relate to individual animal payment. Successful introduction would provide huge incentive for improved cattle supply but requires a transition to a collaborative more “open book” industry culture than the traditional more adversarial position.

Much has been achieved and much remains to be done. The future is in our hands, but we can see an exciting way forward.

REFERENCES

- Bonny SPF, Pethick DW, Legrand I, Wierzbicki J, Allen P, Farmer LJ, Polkinghorne RJ, Hocquette JF and Gardner GE 2016d. Ossification score is a better indicator of maturity related changes in eating quality than animal age. Animal 10, 718–728
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008. Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1451-1458

UN CEREBRO VIRTUAL DE GRANJA LECHERA

Di Lianf, Hector Delgado, Victor E.Cabrera

Departamento de Ciencias Lácteas de la Universidad de Wisconsin-Madison

RESUMEN

Estamos desarrollando un "cerebro virtual de granjas lecheras" mediante la aplicación de la integración de datos en tiempo real y el análisis de Big Data (datos a gran escala). Se trata de un proyecto transdisciplinario de investigación y extensión que involucra a científicos multidisciplinarios, productores de leche y profesionales de la industria. Las granjas lecheras han adoptado grandes y diversas innovaciones tecnológicas, como sensores y sistemas robóticos, y han adquirido vastas cantidades de flujos de datos constantes, pero no han sido capaces de integrar toda esta información de manera eficaz para mejorar la toma de decisiones para toda la granja. En consecuencia, el impacto total de la adopción de todas estas nuevas tecnologías no está siendo plenamente realizado. Es imperativo desarrollar un sistema que pueda recopilar, integrar, gestionar y analizar datos de dentro y fuera de la granja en tiempo real para acciones prácticas y relevantes. Hasta la fecha, hemos implementado en tiempo real, integrado, grandes flujos de datos de 3 granjas en Wisconsin con éxito. El almacén conecta diariamente datos sobre las vacas, los terneros, la granja, el tiempo, y los datos económicos. Esto implica la limpieza y la normalización de los datos, así como la recuperación de datos a demanda. Estamos utilizando el sistema de gestión de bases de datos de última generación de la Universidad de Wisconsin-Madison Center para la computación de alta disponibilidad (High Throughput Computing). Demostramos nuestro concepto de análisis predictivo proporcionando algunas ilustraciones de aplicaciones prácticas utilizando flujos de datos integrados como el estudio de la evolución de la eficiencia de la alimentación, ingresos de la leche sobre el coste de la alimentación, y la incidencia y gravedad de la mastitis. Se trata de un proyecto innovador en curso que se prevé va a transformar la forma en que operan las granjas lecheras.

Palabras clave: datawarehouse, integración de datos, simulación, modelado, optimización

INTRODUCCIÓN

El objetivo primordial será una mayor productividad en lugar de un rebaño lechero más grande, será el de satisfacer la creciente demanda de productos lácteos en un futuro previsible debido al aumento de las regulaciones y las preferencias de los consumidores. El desafío es entonces optimizar el sistema de granjas lecheras para llegar a ser aún más eficiente. La producción de leche es una función de la genética y la gestión (Shook, 2006) y se han logrado avances significativos en la genética (Shook, 2006), la nutrición (VandeHaar y St-Pierre, 2006), la reproducción (Moore y Thatcher, 2006), la salud (LeBlanc *et al.*, 2006), los sistemas de cultivo (Tilman *et al.*, 2002), y la gestión que han dado lugar a un aumento de la productividad del 40% durante los últimos 50 años (Oltenacu y Broom, 2010). Sin embargo, surgen nuevos retos con estos cambios y se requieren mejoras adicionales. La administración de la granja evoluciona constantemente y los datos de buena calidad, en tiempo real e integrado pueden ayudar a los administradores del rebaño a optimizar el sistema de producción. Las mejoras adicionales empujarán los límites bio-fisiológicos de la vaca y del sistema entero. Además, las mejoras en algunas áreas de gestión podrían ser contraproducentes para otras áreas de gestión. Por ejemplo, las vacas más productivas tienen problemas reproductivos (Lucy, 2001), pueden ser menos eficientes al convertir la alimentación en leche, y producir más residuos por unidad de leche a medida que se agrandan en tamaño (Manzanilla-Pech *et al.*, 2016). Añadido a esta complejidad los patrones de mercado y de las condiciones meteorológicas son altamente imprevisibles. El mercado de los productos lácteos se ha vuelto mucho más incierto (Jesse y Cropp, 2008) y como tal, la industria láctea está experimentando una volatilidad sin precedentes en relación a los ingresos del mercado y de la leche menos los costes de alimentación (Gould, 2017). Existe la necesidad de herramientas y proyecciones de apoyo a la toma de decisiones que tengan en cuenta las incertidumbres biológicas, de precio y meteorológicas inherentes al sistema de producción (Mirando *et al.*, 2012). Para lograr esto es vital la toma de decisiones sobre los análisis de grandes datos integrados (Wolfert *et al.*, 2017). Las granjas lecheras han recibido con los brazos abiertos las innovaciones tecnológicas y cuentan en la actualidad con unos flujos permanentes de datos masivos. Se genera constantemente una tremenda cantidad de datos relacionados con la granja lechera e incluyen datos internos de la granja tales como el ordeño, la alimentación, o reproducción, y datos externos como el clima y los precios. Los investigadores de animales son parte de la gran revolución de datos (Madrigal, 2012). La introducción de nuevas tecnologías en la granja, junto con la ayuda de Internet para gestionar la producción ganadera utilizando los principios y técnicas de procesos de ingeniería, se convierte en ganadería de precisión (Wathes *et al.*, 2008; Bewley y Russell, 2010). Sin embargo, dado que estas nuevas tecnologías evolucionan rápidamente, los gestores de granjas lecheras y los investigadores de animales no están listos para superar el nuevo desafío y por lo tanto aprovechar plenamente las oportunidades (Madrigal, 2012). En consecuencia , los objetivos de este manuscrito son: 1) desarrollar un almacén de datos integrados en tiempo real para la operación de las lecherías y 2) demostrar la viabilidad y la aplicación de la visualización de datos integrados en tiempo real y de los análisis de grandes datos para apoyar una óptima toma de decisión.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la actualidad estamos recolectando de forma permanente datos internos y externos de manera permanente de las granjas lecheras seleccionadas de Wisconsin y otras fuentes. Todos estos grandes flujos de datos están siendo almacenados en distintas instalaciones de la Universidad de Wisconsin-Madison. Estos datos se normalizan e integran en un almacén de datos en tiempo real para visualizar y realizar analíticas integradas de inteligencia artificial para mejorar la toma de decisiones.

Las granjas y los datos

Los granjeros de tres importantes granjas lecheras de Wisconsin están colaborando y compartiendo todos los flujos de datos para el proyecto de Cerebro de la Granja Lechera. Los datos recogidos y el software o servicios utilizados para recogerlos están resumidos en la Figura 1, en general incluyen:

Gestión del rebaño que se usa para mantener registros de

actividades rutinarias y operacionales en el rebaño, por ejemplo, reproducción, partos, salud, tales como vacunas, presencia de enfermedades y tratamientos.

El sistema de ordeño Recoge los datos registrados durante los procesos de ordeño, ej., volumen, conductividad y velocidad de ordeño de la leche.

La Genética/Genómica mantiene registros de los datos genéticos de todos los animales, terneros, vaquillas y vacas, por ejemplo, el pedigrí, índice de rendimiento total, mérito neto.

Datos de mejora de rebaño lechero (DHI) registros de datos de las variables del día de visita de prueba mensuales, por ejemplo, volumen de leche, recuento de células somáticas, grasa láctea y contenido proteico, cantidad total de grasa y proteína en la lactancia actual.

La Información de los registros de control de alimentación relacionada con el proceso de nutrición de los animales individualmente o agrupados por corrales, por ejemplo, la composición de la dieta, el promedio de consumo por día, el consumo de materia seca, el coste por kg de ración.

Informes de datos de los procesadores de leche nos dicen la composición de la leche en cada carga, por ejemplo, el contenido de grasas y proteínas y el recuento de células somáticas.

Todos los datos recopilados se almacenan en el Centro de Computación de Alta Disponibilidad (servidor HTCondor, http://chtc.cs.wisc.edu) de la Universidad de Wisconsin-Madison. Antes de almacenar los datos se convierten correctamente a formato legible y se comprueba la duplicación. Estos archivos llenan un sistema de base de datos multidimensional. Las bases de datos multidimensionales son ventajosas porque facilitan la implementación de diferentes análisis y visualizaciones que de otro modo serían muy complicados (Chaudhuri y Dayal, 1997).

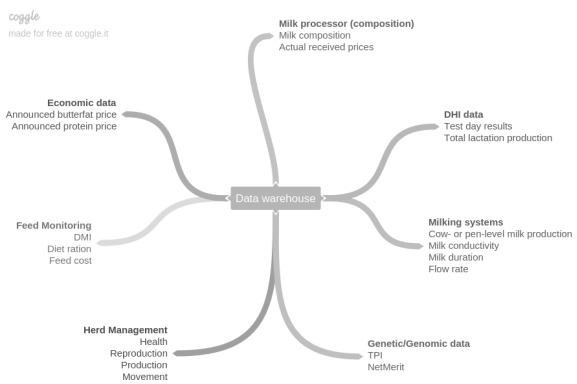


Figura 1. Fuentes de flujo de datos en tiempo real actualmente recopiladas por el proyecto Cerebro Virtual de la Granja Lechera

Normalización de datos y edición

Seguimos diferentes pasos de normalización y edición para hacer coincidir los datos, seleccionar las variables y desarrollar conjuntos de datos legibles. Las variables clave seleccionadas para que coincidan con los datos individuales de los animales son el número de identificación vaca (ID), fecha de nacimiento (BDAT) y número de identificación electrónica (EID). Aunque la ID de la vaca es la variable más comúnmente utilizada diariamente en la toma de decisiones de gestión agrícola, puede no estar debidamente incluida en algunas fuentes de datos a nivel de la vaca. En su lugar, los números de Identificación Electrónica EID siempre se registran en los datos a nivel de vaca porque el lector de chips de radio-frecuencia identifica el EID directamente de las vacas. Para identificar las vacas, es necesario utilizar combinaciones de las diferentes variables dependiendo del software para que coincidan. Por ejemplo, para conectar el software de gestión del rebaño (software DairyComp) con el software del sistema de ordeño (SmartDairy) se necesita un proceso de conciliación de 2 pasos porque SmartDairy no registra el ID individual de cada vaca correctamente. El primer paso es hacer coincidir el EID en SmartDairy con el EID en DairyComp. El segundo paso es encontrar el identificador de coincidencia en DairyComp basado en el EID de las vacas. Además, el EID es un carácter variable en DairyComp que primero debe ser normalizado en una variable numérica. Algunos de los EID en DairyComp también pueden empezar con los caracteres “USA”, que necesita ser convertido a “840” antes de hacerlo coincidir con el EID de otras fuentes. Para evitar la posible duplicación de la ID de las vacas, el BDAT también se usa al hacer coincidir la ID de las vacas.

Software de gestión

Separamos diferentes variables o eventos registrados en el software de gestión de rebaños DairyComp por su tipo para mejorar el diseño del almacén de datos, facilitar el procesamiento de datos y los análisis posteriores. Por consiguiente, hemos clasificado las variables en Salud, Reproducción, Producción y Gestión. Sin embargo, dentro de cada granja e incluso dentro de una granja a lo largo del tiempo, los eventos pueden tener un nombre diferente. Esta es una flexibilidad proporcionada por DairyComp que se convierte en un reto importante en el proceso de limpieza de datos. En consecuencia, identificamos y normalizamos los eventos de las 3 granjas participantes verificando los patrones de lenguaje en los eventos o comentarios variables. Para evitar incoherencias en los datos, hemos adaptado el proceso de edición de datos de St-Onge *et al.* (2002) Solo los animales con al menos 1 parto registrado y con información sobre su producción de leche (registros de DHI) se incluyen en la base de datos final.

Almacén de datos

Se extraen 10 tablas de datos de diferentes aspectos de la producción lechera inicialmente de las diferentes fuentes de datos. Estas tablas son: 1) Información del animal, 2) información genética (DairyComp), 3) Genética (Enlight), 4) Reproducción, 5) Salud, 6) Administración, 7) todos los registros de ordeño, 8) resumen de producción a nivel de lactancia , 9) registros de DHI, y 10) vigilancia de la alimentación. Los registros se combinan utilizando SAS® 9.4 (SAS, 2018). Editamos y limpiamos los datos para evitar errores de introducción de datos y cálculos incorrectos. La mayor parte de este proceso está automatizado, aunque una porción significativa del trabajo de limpieza y transformación fue hecho manualmente con antelación. Como tal, el primer prototipo del sistema integrado de base de datos ha sido desarrollado utilizando Microsoft Access 2016. El principal objetivo fue el de integrar conjuntos de datos de diferentes orígenes, permitiendo consultas mediante el sistema integrado de flujos de datos para facilitar el análisis descriptivo, en primer lugar, y, en segundo lugar, los modelos de herramientas predeterminadas. Las variables clave son asignadas al rebaño, ID y BDAT para establecer relaciones uno a uno o uno a muchos dentro de los conjuntos de datos (por ejemplo, un animal del archivo animal tiene 4 diferentes lactancias, y cada lactancia tiene varios registros en el DHI dataset).

La preparación y el análisis de datos

Análisis de datos descriptivos y predictivos requieren mayor preparación de la información almacenada en la base de datos

prototipo, como la eliminación de la falta de datos, eliminar los datos atípicos o comprender el patrón de idioma de los comentarios del evento. Para calcular el período de retiro de mastitis tras el tratamiento de la mastitis en la granja 3 (explicada más adelante), la preparación de datos siguió el procedimiento descrito en la figura 2 y se llevó a cabo en R 3.4.1. (R Core Team, 2017). El primer paso después de recuperar todos los registros de ordeño de vacas que tuvieron mastitis ("MAST") del prototipo del almacén de datos fue ordenar los datos extraídos por fecha en orden ascendente. Los siguientes 3 pasos son para quitar los casos de mastitis que ocurrieron antes de que los datos estuvieran disponibles en el sistema de ordeño (mayo de 2016), que se produjeron en las vacas secas, vacas afectadas o que se retiraron o se secaron poco después de la mastitis. El siguiente paso consistió en la eliminación del resto de datos debido a errores en los registros de ordeño como falta de EID, fecha incorrecta, atípicos, etc. El siguiente paso fue clasificar los casos de mastitis por gravedad según los comentarios del suceso. Entonces, finalmente, se calcula el período de retirada utilizando los datos agregados de los 3 siguientes registros de ordeño después de que tuviera lugar la mastitis.

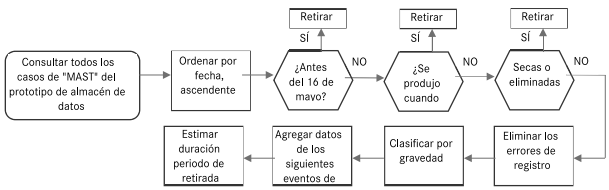


Figura 2. Un diagrama de flujo del proceso de preparación de datos para estimar el período de retiro de leche después del tratamiento con antibióticos de la mastitis en la granja 3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hemos desarrollado un prototipo de base de datos integrada a tiempo real que conecta los más importantes flujos de datos en 3 granjas de Wisconsin. Esta es una tarea prospectiva en la que los datos están fluyendo constantemente a la base de datos en tiempo real en el momento en que los datos se recogen de las explotaciones lecheras por distintos sistemas de software o servicio. Dado que es necesario contar con los antecedentes y datos históricos para nuestro análisis inicial y con la posibilidad de recopilar los registros históricos, hemos incluido estos registros históricos en nuestra base de datos, en la medida de lo posible, al principio. Fuimos capaces de recuperar datos históricos de las vacas que comenzaron su producción en 2007. Esta recogida de datos permite rastrear la información disponible de estudios retrospectivos y longitudinales. Hasta la fecha contamos con datos integrados de más de 40,000 lactancias. Los registros de datos se actualizan diariamente.

Usos prácticos de la base de datos integrada a tiempo real del almacén

La eficiencia de la alimentación e ingresos sobre gastos de alimentación

La eficiencia de la alimentación se define como la leche producida dividida por el alimento seco consumido. La eficiencia de la alimentación diaria puede calcularse mediante la integración de los registros diarios de la vaca (nivel 3) o nivel de granja (granja 2) registros de ordeño (desde el software del sistema de ordeño, SmartDairy), nivel el consumo de materia seca (desde el software de control de alimentación, FeedWatch en granja 3 y TMR tracker en granja 2), y la asignación diaria de las vacas en estabulación (del software para la gestión del rebaño, DairyComp). Una ilustración para la granja 3 se muestra en la figura 2.

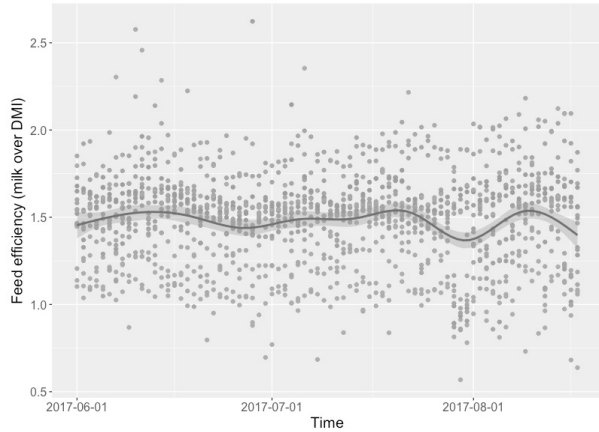


Figura 2. La eficiencia de la alimentación diaria del rebaño (DOTS) y de la granja (línea) para la granja 3 en días seleccionados en 2017. Eficiencia de la alimentación = kg de leche / kg de materia seca consumida.

Además, también se puede calcular el ingreso de la leche sobre el costo de la alimentación, definido como la diferencia en los ingresos de las ventas de leche menos la inversión en los alimentos (una ilustración para la Granja 2 se muestra en la Figura 3). Para lograr esto, es necesaria la integración de datos adicionales. Los datos de la composición láctea (contenido de grasa y proteína) se extraen de la base de datos del procesador de leche (Grande). Los precios de componentes de leche se recoge a partir de una base de datos económicos externos (Comprensión de los mercados lácteos, http://future.aae.wisc.edu). Los costes de alimentación son finalmente recogidos desde el software de control de alimentación. Los ingresos de leche sobre el coste de alimentación, que es el principal determinante de la rentabilidad de las granjas lecheras (Kalantari *et al.*, 2016), es un indicador clave de rendimiento que pueden ayudar con las políticas de gestión eficaz tales como la longevidad o los objetivos de producción para decisiones agrícolas estratégicas o tácticas críticas. Observando la figura 3 es evidente que hay un patrón estacional de ingresos sobre gastos de alimentación de leche con mucha mayor variabilidad (incertidumbre) durante los meses de agosto y septiembre, el final de la temporada de verano en los que las vacas podrían haber experimentado estrés por calor. Más adelante en el año, la variabilidad disminuye y aumentan los ingresos de la leche con respecto al aumento del coste de alimentación, lo cual sería una función de aumento de la productividad, mejora de la eficiencia de la alimentación, mejores condiciones de mercado o una combinación de todos o algunos de estos factores.

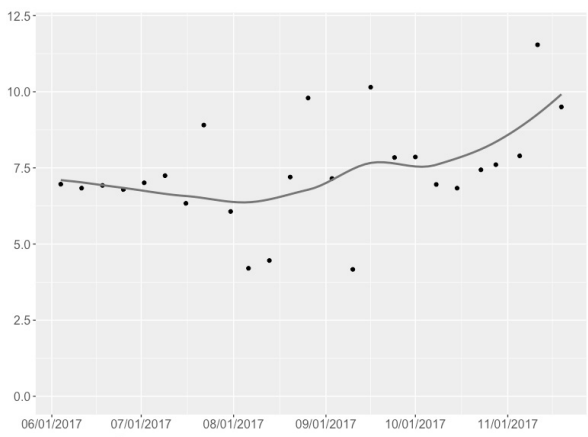


Figura 3. Ingresos semanales de la leche de granja (punto) leche ingresos sobre gastos de alimentación ($/vaca/día) en la granja 2 para meses seleccionados en 2017. La línea es tendencia del ingreso de la leche a nivel de granja sobre el coste de la alimentación.

Tener acceso a flujos de datos integrados en tiempo real de la granja (producción, rendimiento) y fuentes externas que afectan a la granja (clima, mercado) proporciona a los agricultores una gran ventaja competitiva para una toma de decisiones mejorada sistemática y basada en datos. Esta bastante simple, pero potente ilustración demuestra la posibilidad real y práctica de integrar eficazmente los grandes flujos de datos y utilizarlos en tiempo real con fines prácticos.

Incidencia de mastitis y el período de retirada del tratamiento antibiótico

Otro ejemplo del uso de la base de datos integrada en el nivel de gestión, es el análisis de la retirada de la leche debido al tratamiento antibiótico. La distribución de la duración del período de extracción de leche para las vacas diagnosticadas con mastitis de diferentes niveles de gravedad (leve, moderada y grave) y prescritas con tratamiento antibiótico en la Granja 3 se muestra en la Figura 4. Este análisis requiere los registros integrados de mastitis a nivel de vaca del software de gestión del rebaño (software DairyComp) y los registros de ordeño de ordeño de vacas delos registros del sistema de ordeño (SmartDairy). En un futuro próximo, vamos a combinar estos resultados con análisis de supervivencia e indicadores de rentabilidad. Esto ayudará a los agricultores a comprender el tiempo de supervivencia de los animales después de casos similares de mastitis y su rentabilidad, para que los gerentes puedan anticipar sus acciones en el momento en que se encuentren con un nuevo caso de mastitis.

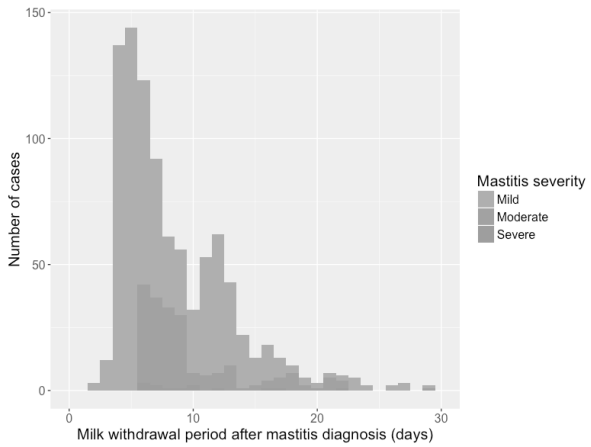


Figura 4. Duración del periodo de retirada de leche después del diagnóstico de mastitis entre 2016 y 2017 en Granja 3.

Conjuntos de datos en tiempo real proporcionan la gran oportunidad de aprender de los datos actuales y pasados y el uso de la inteligencia artificial (por ejemplo, aprendizaje de máquinas) para anticipar acciones, probablemente incluso antes de que ocurran. En el caso específico de la mastitis, por ejemplo, será impactante tener una incidencia de estimación probabilística basada en los registros históricos del nivel de vaca y la situación actual, por lo que las acciones se pueden optimizar con anterioridad. Anticipamos que este proceso será dinámico e interactivo, lo que significa que la precisión de la predicción mejorará a medida que haya más datos integrados en tiempo real disponibles. Al igual que los agricultores que adquieren experiencia y conocimientos a lo largo del tiempo, esperamos que el sistema "aprenda" sobre la marcha, por lo que las proyecciones y, en consecuencia, las decisiones, mejorarán con el tiempo. Para que esto ocurra, necesitamos la base de datos integrada funcional a tiempo real y un análisis de datos altamente sofisticado que incluya inteligencia artificial.

CONCLUSIONES

Hasta la fecha, hemos implementado con éxito un flujo de datos integrado en tiempo real en 3 granjas en Wisconsin. El almacén conecta diariamente los flujos de datos sobre la vaca, el rebaño, la granja, el tiempo, y los datos económicos. El trabajo implica limpiar y normalizar los datos, así como almacenar y proporcionar una forma eficiente de consultar, visualizar y recuperar datos según demanda. Estamos utilizando el sistema de gestión de bases de datos de última generación contenida en el Centro de Informática de alto rendimiento de la Universidad de Wisconsin-Madison. Proporcionamos algunos ejemplos de aplicaciones prácticas utilizando secuencias de datos integrados sobre los datos almacenados como el estudio de la evolución de la eficiencia de los alimentos, ingresos de la leche sobre gastos de alimentación y la incidencia y gravedad de la mastitis. Estas son pruebas de concepto que se conectan con modelos predictivos más sofisticados utilizando inteligencia artificial y análisis de grandes volúmenes de datos. Estamos avanzando de manera segura a nuestro objetivo de desarrollar nuestro conceptualizado "Cerebro Virtual de la Granja Lechera". Se trata de un proyecto innovador en curso que se prevé va a transformar la forma en que operan las granjas lecheras.

BIBLIOGRAFÍA

- Bewley, J.M. and Russell, R.A. (2010) *Reasons for slow adoption rates of precision dairy farming technologies: evidence from a producer survey*. In Proceedings of the First North American Conference on Precision Dairy Management.
- Chaudhuri S., Dayal U. (1997) An Overview of Data Warehousing and OLAP Technology.*SIGMOD 26*
- Gould, B. (2017) LGM_DairyAnalyzer, unpublished software system.*University of Wisconsin-Madison Dept. of Ag. and Applied Economics,*http://future.aae.wisc.edu/lgm_analyzer/.
- Jesse, E., &Cropp, B. (2008) Basic milk pricing concepts for dairy farmers. *Economic Research*, *180*:200.
- Kalantari, A. S., Armentano, L. E., Shaver, R. D., & Cabrera, V. E. (2016) Economic impact of nutritional grouping in dairy herds. *Journal of dairy science*, *99*(2): 1672-1692.
- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2006) Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of dairy science*, *89*(4): 1267-1279.
- Lucy, M. C. (2001) Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?. *Journal of dairy science*, *84*(6): 1277-1293.
- Madrigal C. A. (2012) The Perfect Milk Machine- How big data transformed the Dairy Industry. *The Atlantic (online article).https://www.theatlantic.com/technology/archive/2012/05/the-perfect-milk-machine-how-big-data-transformed-the-dairy-industry/256423/*
- Mirando, M. A., J. M. Bewley, J. Blue, D. M. Amaral-Phillips, V. A. Corriher, K. M. Whittet, N. Arthur, and D. J. Patterson. (2012) Reinventing extension as a resource–What does the future hold?. Journal of Animal Science 2012(90):3677–3692.

- Manzanilla-Pech, C. I. V., Veerkamp, R. F., Tempelman, R. J., van Pelt, M. L., Weigel, K. A., VandeHaar, M., ... &Hanigan, M. (2016) Genetic parameters between feed-intake-related traits and conformation in 2 separate dairy populations—the Netherlands and United States. *Journal of dairy science*, *99*(1): 443-457.
- Moore, K., & Thatcher, W. W. (2006) Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *89*(4): 1254-1266.
- Oltenacu, P. A., & Broom, D. M. (2010) The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal welfare*, *19*(1): 39-49.
- R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.URL https://www.R-project.org/.*
- Shook, G. E. (2006) Major advances in determining appropriate selection goals. *Journal of Dairy Science*, *89*(4): 1349-1361.
- St-Onge, A., Hayes, J. F., & Cue, R. I. (2002) Economic values of traits for dairy cattle improvement estimated using field-recorded data. *Canadian journal of animal science*, *82*(1): 29-39.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor, and S. Polasky. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418(6898):671-677.
- VandeHaar, M. J., & St-Pierre, N. (2006) Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. *Journal of Dairy Science*, *89*(4):1280-1291.
- Wathes, C. M., Kristensen, H. H., Aerts, J. M., &Berckmans, D. (2008) Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall?. *Computers and electronics in agriculture*, *64*(1): 2-10.
- Wolfert, S., Ge, L., Verdouw, C., &Bogaardt, M. J. (2017) Big Data in Smart Farming–A review. *AgriculturalSystems*, *153*: 69-80.

ENGLISH VERSION

A Virtual Dairy Farm Brain

Di Liang, Hector Delgado, Victor E. Cabrera

Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison

ABSTRACT

We are developing a "Virtual Dairy Farm Brain" by applying real-time data integration and big data analytics. This is a trans-disciplinary research and extension project that engages multi-disciplinary scientists, dairy farmers, and industry professionals. Dairy farms have embraced large and diverse technological innovations such as sensors and robotic systems, and procured vast amounts of constant data streams, but they have not been able to integrate all this information effectively to improve whole farm decision-making. Consequently, the full impact of adopting all these new technologies is not being fully realized. It is imperative to develop a system that can collect, integrate, manage, and analyze on-farm and off-farm data in real-time for practical and relevant actions. To date, we have successfully implemented real-time, integrated, big data streams from 3 farms in Wisconsin. The warehouse connects daily cow, herd, farm, weather, and economic data. This involves cleaning and normalizing the data as well as retrieving data on demand. We are using the state-of-the-art database management system from the University of Wisconsin-Madison Center for High Throughput Computing. We demonstrate our predictive analyses concept by providing some illustrations of practical applications using integrated data streams such as studying the evolution of the feed efficiency, milk income over feed cost, a nd mastitis incidence and severity. This is an ongoing innovative project that is anticipated to transform how dairy farms operate.

Keywords: data warehouse, data integration, simulation, modeling, optimization

INTRODUCTION

Greater productivity, rather than a larger dairy herd, will be the primary aim to meet the increased demand for dairy products in the foreseeable future due to increased regulations and consumer preferences. The challenge is then to optimize the dairy farm system to become even more efficient. Milk production is a function of genetics and management (Shook, 2006) and significant advancements have been made in genetics (Shook, 2006), nutrition (VandeHaar and St-Pierre, 2006), reproduction (Moore and Thatcher, 2006), health (LeBlanc *et al.*, 2006), cropping systems (Tilman *et al.*, 2002), and management that have resulted in productivity risen by 40% during the last 50 years (Oltenacu and Broom, 2010). However, new challenges arise with these changes and additional improvements are required. Farm management evolves constantly and good-quality, real-time, and integrated data can help herd managers to optimize the production system. Additional improvements will push the bio-physiological limits of the cow and the whole system. Furthermore, improvements in some management areas could be counterproductive for other management areas. For instance, more productive cows have reproductive problems (Lucy, 2001), may be less efficient converting feed to milk, and produce more waste per unit of milk as they become bigger in size (Manzanilla-Pech *et al.*, 2016). Adding to this complexity, market patterns and weather conditions are highly unpredictable. The market of dairy products has become much more uncertain (Jesse and Cropp, 2008) and as such, the dairy industry is experiencing unprecedented market and milk income minus feed costs volatility (Gould, 2017). There is a need for decision-support tools and projections that account for biological, price, and weather uncertainties inherent to the production system (Mirando *et al.*, 2012). To achieve this, real-time, integrated big data analytics decision-making is vital (Wolfert *et al.*, 2017). Dairy farms have embraced technological innovations and nowadays count with massive permanent data streams. A tremendous amount of dairy farm related data is constantly generated and includes on-farm data such as milking, feeding, or reproduction, and off-farm data such as weather and prices. Animal scientists are part of the big data revolution (Madrigal, 2012). The introduction of new technologies on the farm, together with the Internet of things to manage livestock production using the principles and techniques of process engineering, becomes precision livestock farming (Wathes *et al.*, 2008; Bewley and Russell, 2010). However, since these new technologies evolve rapidly, dairy farm managers and animal scientists are not ready to overcome the new challenge and therefore take full advantage of the opportunities (Madrigal, 2012). Consequently, the objectives in this manuscript are: 1) develop an integrated real-time big data warehouse for the dairy farming operation and 2) demonstrate the feasibility and application of integrated real-time data visualization and big data analyses to support optimal decision-making.

MATERIALS AND METHODS

We are currently collecting on- and off-farm data on a permanent basis from selected Wisconsin dairy farms and other sources. All these big data flows are being stored in a server located at the University of Wisconsin-Madison premises. These data are being normalized and integrated into a data warehouse on real-time to visualize and perform integrated artificial intelligence analytics for improved decision-making.

The farms and the data

Farm managers from 3 prominent dairy farms in Wisconsin are collaborating and are sharing all their data streams for the Virtual Dairy Farm Brain project. The data being collected and the software or services used for such collection are summarized in Figure 1 and, in general, include:

Herd management that is used to keep records of routine and operational activities in the herd, e.g., reproduction, calvings, health such as vaccinations, presence of diseases, and treatments.

Milking system collects the data recorded during the milking process, e.g., milk volume, milk conductivity, milking speed.

Genetic/Genomic keeps records of the genetic data of all animals, calves, heifers, and cows, e.g., pedigree, total performance index, net merit.

Dairy Herd Improvement (DHI) data records monthly test-day visit variables, e.g., milk volume, somatic cell count, milk fat and protein content, total amount of fat and protein in the current lactation.

Feed monitoring records information related to the nutrition process of the animals individually or grouped by pens, e.g., diet composition, average consumption per day, dry matter intake, cost per kg of ration.

Milk processor data reports the milk composition in each milk shipping load, e.g., milk fat and protein content, somatic cell count.

All collected data are stored in the Center for High Throughput Computing (HTCondor server, http://chtc.cs.wisc.edu) from the University of Wisconsin-Madison. Before storing, all data are properly converted to readable format and checked for duplication. These files populate a multidimensional database system. Multidimensional databases are advantageous because facilitate the implementation of different analyses and visualization that otherwise would be very complicated (Chaudhuri and Dayal, 1997).

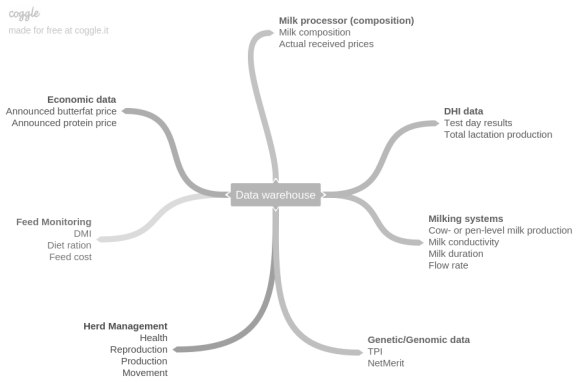


Figure 1. Real-time data stream sources currently collected by the Virtual Dairy Farm Brain project.

Data normalization and editing

We follow different normalizing and editing steps to match the data, select the variables, and develop readable datasets. The key variables selected to match the data from individual animals are cow identification number (ID), date of birth (BDAT), and electronic identification number (EID). Although cow ID is the most commonly variable used in the daily farm management decision-making, it may not be properly included in some cow-level data sources. Instead, EID is always recorded in the cow-level data because the radio-frequency chip reader identifies EID directly from cows. To identify the cows, it is necessary to use combinations of the different variables depending on the software to match. For example, connecting the herd management software (DairyComp) with the milking system software (SmartDairy) needs a 2-step matching process because SmartDairy does not record individual cow's ID properly. The first step is to match the EID in SmartDairy with the EID in DairyComp. The second step is to find the matching ID in DairyComp based on the cow's EID. In addition, EID is a character variable in DairyComp that first needs to be normalized into a numeric variable. Some of the EID in DairyComp may also start with the characters "USA," which needs to be converted to "840" before matching with the EID from other sources. To avoid the potential cow ID duplication, BDAT is also used when matching cows ID.

Management software

We separate different variables or events recorded in the herd management software DairyComp by their type to better design the data warehouse, facilitate data processing, and posterior analyses. Consequently, we classified variables as Health, Reproduction, Production, and Management. However, within each farm and even inside a farm throughout time, events can be named differently. This is a flexibility provided by DairyComp that becomes a major challenge in the data cleaning process. Consequently, we identify and normalize the events of the 3 participant farms by checking the language patterns in the events or variable remarks. To avoid inconsistencies in the data, we adapted the St-Onge *et al.* (2002) data editing process. Only animals with at least 1 recorded calving and with information for milk production (DHI records) are included in final database.

Data warehouse

Ten tables of data from different dairy production aspects are initially extracted from the different data sources. These tables are: 1) animal information, 2) genetics (DairyComp), 3) genetics (Enlight), 4) reproduction, 5) health, 6) management, 7) every milking records, 8) lactation-level production summary, 9) DHI records, and 10) feed monitoring. The records are then matched using SAS® 9.4 (SAS, 2018). We edit and clean the data to avoid input errors and incorrect calculations. Most of this process is now automated, although a significant portion of the cleaning and transformation work was first manually done. As such, the first integrated prototype database has been developed in Microsoft Access 2016. The main goal was to integrate datasets from different sources allowing queries using the integrated data streams to facilitate, first, descriptive analytics and, second, predictive tool models. Key variables are assigned on Herd, ID and BDAT for establishing one to one or one-to-many relationships within the datasets (e.g., one animal from the animal file has 4 different lactations, and each lactation has several records in the DHI dataset).

Data preparation and analysis

Descriptive and predictive data analyses need further preparation on the information stored in the prototype database, such as removing the missing data, removing outlier data, or understanding the language pattern of the event's remarks. To estimate the mastitis withdrawal period after mastitis treatment in Farm 3 (discussed later), the data preparation followed the procedure in Figure 2 and was conducted in R 3.4.1. (R Core Team, 2017). The first step after retrieving all the milking records from cows that had mastitis ("MAST") from the prototype data warehouse was to sort the extracted data by date in ascending order. The next 3 steps were to remove mastitis events that occurred before the data were available from the milking system (May 2016), occurred in dry cows, or affected cows that were either removed or dried soon after the case of mastitis. The next step consisted of cleaning up the remaining data due to errors in milking records such as missing EID, incorrect date, outliers, etc. The following step was to categorize the mastitis case by severity according to the event remarks. Then, finally, we estimated the withdrawal period by using the aggregated data from the 3 following milking recordings after the mastitis event occurred.

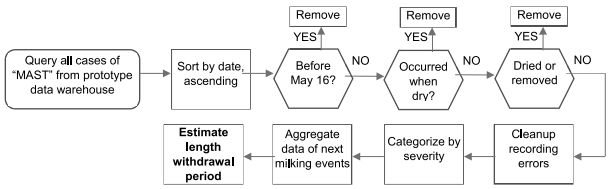


Figure 2. A flowchart of data preparation process to estimate the milk withdrawal period after mastitis antibiotic treatment in Farm 3.

RESULTS AND DISCUSSION

We have developed a real-time prototype integrated database that connects the most important data streams in 3 Wisconsin farms. This is a forward-looking task in which data are constantly flowing to the database in real-time at the moment data are being collected on the dairy farms by different software or service systems. Since it is necessary background and historical data for our initial analyses and under the possibility to also collect historical records, we included these historical records in our database, to the extent possible, at the beginning. We were able to retrieve historical data from cows that started production in 2007. This collection allows to trace back the available information for retrospective and longitudinal studies. To date we count with integrated data from more than 40,000+ lactations. Data records are being updated daily.

Practical uses of the integrated real-time database warehouse

Feed efficiency and income over feed cost

Feed efficiency is defined as milk produced divided by the dry matter feed consumed. Daily feed efficiency can be calculated by integrating the daily cow-level (Farm 3) or pen-level (Farm 2) milking records (from the milking system software, SmartDairy), pen-level dry matter intake (from the feed monitoring software, FeedWatch in Farm 3 and TMR tracker in Farm 2), and cows' daily pen allocation (from the herd management software, DairyComp). An illustration for Farm 3 is depicted in Figure 2.

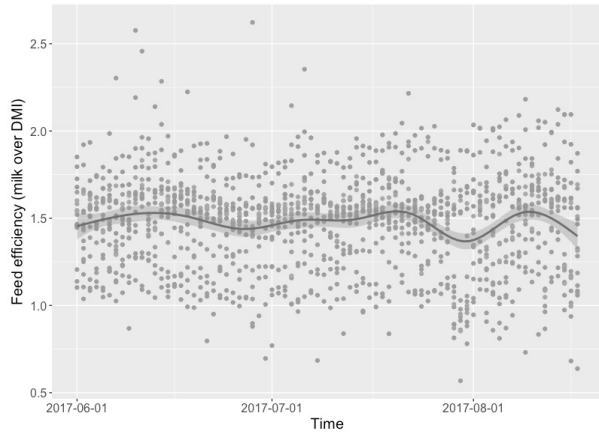


Figure 2. Daily pen (dots) and farm (line) feed efficiency for Farm 3 for selected days in 2017. Feed efficiency = kg milk /kg dry matter feed consumed.

Furthermore, milk income over feed cost can also be calculated, defined as the difference in revenue from milk sales minus the investment in feed (an illustration for Farm 2 is depicted in Figure 3). To achieve this, additional data integration is required. Milk composition data (butterfat and protein content) is extracted from the milk processor database (Grande). Milk component prices is collected from an external economic database (Understanding Dairy Markets, http://future.aae.wisc.edu). Feed costs are finally collected from the feed monitoring software. Milk income over feed cost, which is the largest determinant of dairy farm profitability (Kalantari *et al.*, 2016), is a key performance indicator that can assist with the effective management policies such as longevity or production goals for tactical or strategical critical farm decisions. It is clear by looking at figure 3 that there is a seasonal pattern on milk income over feed cost with much greater variability (uncertainty) during the months of August and September, the end of the summer season in which cows might have had experienced heat stress. Later in the year, variability decreases and milk income over feed cost increases, which would be a function of increased productivity, improved feed efficiency, better market conditions or a combination of all or some of these factors.

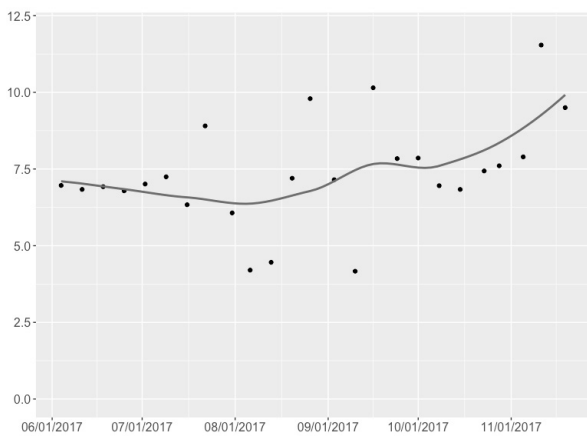


Figure 3. Weekly farm (dot) milk income over feed cost ($/cow per day) in Farm 2 for selected months in 2017. The line is the trend of farm-level milk income over feed cost.

Having access to real-time integrated data streams from the farm (production, performance) and external sources that affect the farm (weather, market) provides farmers a great competitive advantage for improved systematic and data-based

decision-making. This rather simple, but powerful illustration demonstrates the real and practical possibility to effectively integrate large data streams and use them in real-time for practical purposes.

Mastitis incidence and antibiotic treatment withdrawal period

Another example of the use of the integrated database at the management level, is the analysis of the withdrawal of milk due to antibiotic treatment. Distribution of milk withdrawal period length for cows diagnosed with mastitis of different severity levels (mild, moderate and severe) and prescribed with antibiotic treatment in Farm 3 is depicted in Figure 4. This analysis requires the integrated cow-level mastitis records from the herd management software (DairyComp) and cow-level milking records from the milking system (SmartDairy). In the near future, we will combine these results with survival analysis and profitability indicators. This will help farmers understand the time of survival of animals after similar cases of mastitis and their profitability, so managers can anticipate their actions at the time they encounter a new case of mastitis.

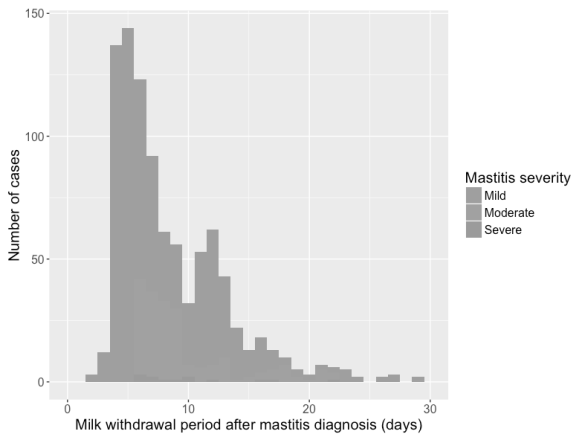


Figure 4. Milk withdrawal period length after mastitis diagnosis between 2016 and 2017 in Farm 3.

Real-time datasets provide the great opportunity of learn from current and past data and use artificial intelligence (e.g., machine learning) to anticipate actions, likely even before they occur. In the specific case of mastitis, for example, it will be impactful to have a probabilistic estimate incidence based on historical cow-level records and current situation, so actions can be optimized earlier. We anticipate this process to be dynamic and interactive, meaning that the prediction accuracy will improve as more integrated real-time data is available. Similar to farmers gaining experience and expertise throughout time, we expect the system to "learn" as it goes, so projections, and consequently decisions, will improve over time. In order for this to occur, we need the functional real-time integrated database and high sophisticated data analytics that include artificial intelligence.

CONCLUSIONS

We have successfully implemented a real-time, integrated, big data live warehouse in 3 farms in Wisconsin. The warehouse connects daily cow, herd, farm, weather, and economic data streams. The work involves cleaning and normalizing the data as well as storing and providing an efficient way to query, visualize, and retrieve data on demand. We are using the state-of-the art database management contained at the University of Wisconsin-Madison Center for High Throughput Computing. We provide some illustrations of practical applications using integrated data streams on stored data such as studying the evolution of the feed efficiency, milk income over feed cost, and mastitis incidence and severity. These are proof of concept that are being connected with more sophisticated predictive models using artificial intelligence and big data analytics. We are securely advancing to our overarching goal of developing our conceptualized "Virtual Dairy Farm Brain." This is an ongoing innovative project that is anticipated to transform how dairy farms operate.

REFERENCES

- Bewley, J.M. and Russell, R.A. (2010) *Reasons for slow adoption rates of precision dairy farming technologies: evidence from a producer survey*. In Proceedings of the First North American Conference on Precision Dairy Management.
- Chaudhuri S., Dayal U. (1997) An Overview of Data Warehousing and OLAP Technology. *SIGMOD 26*
- Gould, B. (2017) LGM_Dairy Analyzer, unpublished software system. *University of Wisconsin-Madison Dept. of Ag. and Applied Economics,* http://future.aae.wisc.edu/lgm_analyzer/.
- Jesse, E., & Cropp, B. (2008) Basic milk pricing concepts for dairy farmers. *Economic Research*, *180*:200.
- Kalantari, A. S., Armentano, L. E., Shaver, R. D., & Cabrera, V. E. (2016) Economic impact of nutritional grouping in dairy herds. *Journal of dairy science*, *99*(2): 1672-1692.
- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2006) Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of dairy science*, *89*(4): 1267-1279.
- Lucy, M. C. (2001) Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?. *Journal of dairy science*, *84*(6): 1277-1293.
- Madrigal C. A. (2012) The Perfect Milk Machine- How big data transformed the Dairy Industry. *The Atlantic (online article). https://www.theatlantic.com/technology/archive/2012/05/the-perfect-milk-machine-how-big-data-transformed-the-dairy-industry/256423/*
- Mirando, M. A., J. M. Bewley, J. Blue, D. M. Amaral-Phillips, V. A. Corriher, K. M. Whittet, N. Arthur, and D. J. Patterson. (2012) Reinventing extension as a resource—What does the future hold?. Journal of Animal Science 2012(90):3677–3692.
- Manzanilla-Pech, C. I. V., Veerkamp, R. F., Tempelman, R. J., van Pelt, M. L., Weigel, K. A., VandeHaar, M., ... & Hanigan, M. (2016) Genetic parameters between feed-intake-related traits and conformation in 2 separate dairy populations—the Netherlands and United States. *Journal of dairy science*, *99*(1): 443-457.
- Moore, K., & Thatcher, W. W. (2006) Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *89*(4): 1254-1266.
- Oltenacu, P. A., & Broom, D. M. (2010) The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal welfare*, *19*(1): 39-49.
- R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.*

- Shook, G. E. (2006) Major advances in determining appropriate selection goals. *Journal of Dairy Science*, *89*(4): 1349-1361.
- St-Onge, A., Hayes, J. F., & Cue, R. I. (2002) Economic values of traits for dairy cattle improvement estimated using field-recorded data. *Canadian journal of animal science*, *82*(1): 29-39.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor, and S. Polasky. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418(6898):671-677.
- VandeHaar, M. J., & St-Pierre, N. (2006) Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. *Journal of Dairy Science*, *89*(4):1280-1291.
- Wathes, C. M., Kristensen, H. H., Aerts, J. M., & Berckmans, D. (2008) Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall?. *Computers and electronics in agriculture*, *64*(1): 2-10.
- Wolfert, S., Ge, L., Verdouw, C., & Bogaardt, M. J. (2017) Big Data in Smart Farming–A review. *Agricultural Systems*, *153*: 69-80.

UTILIZAR LA CLASIFICACIÓN DE CALIDAD DE CARNE DE VACUNO PARA MAXIMIZAR EL DISFRUTE DEL CONSUMO Y LOS INGRESOS DE LA INDUSTRIA

Dr Rod Polkinghorne OAM

PUNTOS CLAVE

- Un enfoque del consumidor es esencial para alinear la actividad industrial.
- Un sistema de Calidad Alimentaria puede proporcionar señales de valor a lo largo de la cadena de suministro con la combinación de datos sobre el rendimiento preciso y de calidad de la alimentación que transmiten su valor de forma transparente desde el consumidor final de vuelta a la granja
- El comercio basado en el valor acelerará el desarrollo rentable de la industria
- La cultura de la industria dictará la tasa de cambio; la tecnología necesaria existe.

En la década de los 90, la industria del vacuno australiano identificó la idea de 'garantizar la calidad comestible de la carne de vacuno y de cordero" como uno de los principales imperativos. Además, se tomó una decisión estratégica de que los resultados deben estar orientados al consumidor.

Esto refleja la realidad de que todos los ingresos de la industria provienen del consumidor final. El total de ingresos disponibles para distribuir entre los sectores de la industria depende completamente del juicio de valor de los consumidores.

Esto representó un alejamiento de la descripción de la calidad de la carne en función de los atributos visuales. Reunió a la investigación sobre el consumo, mercado y ciencia cárnica para desarrollar un esquema nacional de clasificación con estándares de calidad de la carne establecidos por las respuestas sensoriales de los consumidores. Estas puntuaciones sensoriales se relacionaron con la información sobre los canales y animales vivos para desarrollar un modelo de predicción interactiva que proporcionó una descripción objetiva de los resultados de la comida de los terneros. Los graduadores ingresaron datos para cada canal y el modelo MSA calcula puntuaciones de EQ individuales para 39 músculos en hasta 8 métodos de cocción. Información adicional sobre el desarrollo del proceso fue ofrecida por Polkinghorne et.al (2008).

Esto proporciona una potente herramienta para superar la inconsistencia del producto - un factor importante en la insatisfacción de los consumidores de carne de vacuno descrito por Grunert (2004).Proporcionó un fuerte sistema integrado para cada parte de la cadena de suministro en la cual las compañías privadas podrían construir estrategias de marca para mercados diferenciados.

Las historias de procedencia de las marcas se pueden construir ahora en torno a una base de calidad alimentaria conocida, con descripciones precisas de los resultados de una comida. Alinear las expectativas de los consumidores con su experiencia real es muy importante para su percepción del valor y la probabilidad de repetición de compra.

Además, puesto que se prima a los productos diferenciados, se pueden construir cadenas de suministro integradas basadas en la innovación que consiguen unos precios más altos. El desarrollo de nuevos productos basado en el veteado de la carne dirigido a métodos de cocción específicos, la clasificación simplificada de los canales, el deshuesado, envasado y el desarrollo de comidas listas para el consumo (RTE) con una calidad consistente suponen beneficios y permiten una mayor diferenciación de marcas y producto

La tecnología de calidad alimentaria (EQ) responde a la gran preocupación del consumidor cuando compra carne de res: cuál es la calidad y cómo puedo estar seguro de que funcionará según mis expectativas. Proporciona una forma científicamente sustentada de describir y garantizar la calidad, basada en las puntuaciones reales del consumidor. La tecnología EQ proporciona la información que permite a la industria retroceder desde el consumidor a lo largo de toda la cadena de suministro para garantizar el resultado deseado y una experiencia garantizada para el consumidor.

Podría utilizarse para describir los resultados de una comida cocinada en lugar de una descripción del canal o el nombre de un corte. Esto invierte el enfoque tradicional donde se espera que el consumidor tenga suficientes conocimientos como para saber qué comprar y estimar los resultados basados en una serie de descripciones de animales o cortes. Esto proporciona una oportunidad lógica para ofrecer una descripción comercial drásticamente simplificada donde la carne se describe por el estilo de cocción; este es un asado para una ocasión muy especial (mayor satisfacción al comer); es un guiso para una ocasión especial (mas que aceptable); este es un bistec para una ocasión diaria (satisfacción aceptable) donde el precio puede ser más importante. Al consumidor se le presenta una opción de valor directo basada en el tipo de comida deseado y la calidad / ocasión con la industria asumiendo la responsabilidad del resultado. Esto puede ofrecer unas opciones de bueno/mejor/ excelente para describir el valor de la compra como sucede en la mayoría de los otros artículos, por ejemplo, el combustible o los ferrocarriles y las tarifas aéreas.

Ventajas de un enfoque de calidad alimentaria a lo largo de la cadena de suministro

Un enfoque de calidad alimentaria puede impulsar transformaciones en toda la cadena de suministro a través de la relación entre el precio y el resultado del consumidor final. También puede aumentar drásticamente los ingresos y la rentabilidad de la industria.

Para el consumidor - las porciones de 'comida' con Marca "listas para cocinar" que ofrecen un resultado de calidad para los diferentes estilos de cocinar puede sustituir a las descripciones de producto basadas en el corte que son a menudo confusas para el consumidor, requieren conocimientos de cocina y

detalles que no están disponibles sobre la interacción de factores agrícolas y de procesamiento. La mayor confianza del consumidor derivada de una descripción más simple pero concisa de los resultados de una comida y la experiencia de compra mejora el valor y la demanda.

En la sala de deshuesado: los sistemas de calidad basados en la descripción de EUROP, los cortes primarios, la edad de los animales, la dentición y el sexo pueden sustituirse por una tecnología de Calidad Alimentaria (EQ) que predice la calidad de cada porción muscular de acuerdo con su uso final. Esto a su vez promueve la selección de una estrategia óptima de deshuesado ya que el precio sigue a la satisfacción e impulsa el valor máximo de la carne en canal. La clasificación de la carne en canal se basa en grupos de calidad de alimentación comunes en lugar de sexo o grado EUROP. Se puede obtener una mayor precisión y rendimiento mediante tecnologías individuales de seguimiento de corte con las puntuaciones de EQ relacionadas con la identificación de piezas. Mientras que la estrategia inicial del deshuesado de reducir un canal a porciones de calidad alimentaria uniforme puede resultar en porciones musculares adicionales y más trabajo de procesamiento, estas porciones pueden agruparse por calidad de consumo similar por categorías de método de cocción simplificando y reduciendo así los códigos de producto final y alinearlos con las necesidades del cliente. Esto puede incluir la mejora de un producto y la agrupación de fabricantes de comida preparada.

El valor individual de la carne en canal puede ser determinado por el peso del producto dentro de cada banda de calidad de consumo. Esta combinación de rendimiento, actualmente de la clasificación EUROP pero que probablemente será mejorada con nuevas tecnologías, y la evaluación de la calidad alimentaria traerá cambios a la infraestructura y los procesos de la sala de deshuesado y también a los proveedores ya que los pagos de ganado pueden basarse en el valor real de cada canal para mercados específicos. Esto permite una relación de productor a procesador basada en relaciones abiertas y datos compartidos y una asociación más transparente que la relación de confrontación de las décadas pasadas.

La oportunidad para el beneficio mutuo del productor y el procesador es inmensa debido al rango de valor, en gran medida no realizado pero altamente significativa, que se encuentra en grupos de ganado visualmente similares. Polkinghorne (2008a) informó de los resultados de un comercio minorista a la cadena de suministro agrícola que documentó diferencias de valor previamente inesperadas dentro de los suministros. Desde entonces, estos han sido confirmados extensamente e indican el potencial para aumentar drásticamente la eficiencia de la industria a través de una combinación de genética y gestión en la granja. Como defienden Cross y Savell (1992), estos cambios se verán estimulados por sistemas de pago transparentes, como se evidencia en la industria láctea, donde la cantidad y los componentes de la leche se transmiten claramente y dan como resultado una mejora continua.

Con un riguroso sistema de Calidad Alimentaria, la verdadera comercialización basada en el valor (VBT) puede convertirse en la norma con los productores pagados por el rendimiento y la calidad de los componentes de la canal y los componentes de "valor" relacionados, incluyendo las reclamaciones, la elegibilidad del mercado y los atributos individuales de la marca. En un entorno de VBT, los jugadores de la cadena de suministro experimentan un mayor control sobre su precio de venta, lo que respalda la inversión continua en mejoras a su sistema de producción. El cambio de paradigma, de un producto comercializado en promedios a un Comercio realmente Basado en el Valor impulsará las mejoras en la eficiencia en los sectores de producción y procesamiento y mejorará la experiencia de los clientes y resultará en una industria rentable, en expansión y enfocada al consumidor.

El factor de restricción ya no es la tecnología o la capacidad, sino más bien la cultura y la precaución de la industria. Una acción concertada por parte de la industria mundial puede mejorar radicalmente el valor del consumo de carne de vacuno mediante la mejora de la uniformidad del producto y una clara descripción a nivel de comida. El futuro está en nuestras manos!

BIBLIOGRAFÍA

- Cross, H.R and Savell, J.W.1992.What do we need for a value based beef marketing system? Proceedings of 38th International Congress of Meat Science and Technology, 23 – 28 August, 1992, Clermont-Ferrand, France.
- Grunert K.G., Bredahl L. and Brunso K. 2004.Consumer perception of meat quality and implication for product development in the meat sector – a review. Meat Science 66:259-272.
- Polkinghorne R., Thompson J.M., Watson R., Gee A. and Porter M. 2008a.Evolution of the Meat Standards Australia (MSA) beef grading system. Australian Journal of Experimental Agriculture 48:1351-1359.
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008a.Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11):1451-1458.

ENGLISH VERSION

Using Beef Eating Quality Grading to Maximise Consumer enjoyment and Industry revenue

Dr Rod Polkinghorne OAM

KEY POINTS

- A consumer focus is essential to align industry activity
- An Eating Quality system can provide value signals across the supply chain with the combination of accurate yield and eating quality data transparently relaying value from the end consumer back to the farm
- Value based trading will accelerate profitable industry development
- Industry culture will dictate the rate of change; the enabling technology exists

In the 1990's the Australian beef industry identified 'guaranteeing the eating quality of beef and lamb' as one of its key imperatives. Further, it took a strategic decision that the outcomes must be consumer driven.

This reflected the reality that all industry revenue comes from the ultimate consumer. Total revenue available to allocate between industry sectors is entirely dependent on the consumers' value judgement.

This represented a move away from describing meat quality based on visual carcase attributes. It brought together consumer, market and meat science research to develop a national grading scheme with meat quality standards set by consumer sensory responses. These sensory scores were linked to carcass and live animal information to develop an interactive

prediction model which provided objective description of beef meal outcomes. Graders input data for each carcass and the MSA model calculates individual EQ scores for 39 muscles by up to 8 cooking methods. Further discussion of the development process is provided by Polkinghorne et.al (2008).

This provides a powerful tool to overcome product inconsistency – a major factor in consumer dissatisfaction with beef as described by Grunert (2004). It delivered a strong integrated system for each part of the supply chain on which companies could build branding strategies for differentiated markets.

Provenance stories for brands could now be built around a known eating quality base – with accurate descriptions of meal outcomes. Aligning a consumer's expectation with their actual experience is highly important to their perception of value and the likelihood of repeat purchasing.

Further, as premiums are captured for differentiated products strong, integrated supply chains can be built based on innovation and attracting price premiums. The development of new products from muscle seaming targeted at specific cooking methods, simplified carcass sorting, boning, packaging and the development of consistent quality ready-to-eat meals (RTE's) are all flow on benefits and allow for further brand and product differentiation.

Eating quality (EQ) technology speaks to the consumer's major concern when purchasing beef – what is the quality and how can I be sure it will perform to my expectations. It provides a way of describing and guaranteeing quality which is scientifically underpinned and based on actual consumer scores. EQ technology provides the information that allows the industry to work back from the consumer along the entire supply chain to ensure the desired result of a guaranteed consumer experience.

Critically it can be used to describe a cooked meal outcome rather than a carcase description or cut name. This reverses the traditional approach where the consumer is expected to have sufficient knowledge to know what to buy and to estimate the outcome from a series of animal or cut descriptions. This provides a logical opportunity to offer dramatically simplified retail description of essentially a matrix where beef is described by occasion within cooking style; this is a roast for a very special (highest eating satisfaction) occasion; this is a stew for a special (above acceptable) occasion; this is a steak for an everyday (acceptable eating satisfaction) occasion where price may be more important. The consumer is presented with a direct value choice based on the desired meal type and quality/occasion with the industry taking responsibility for the outcome. This can deliver the clear good/better/best value choice experienced in buying most other goods, for example, fuel or railway and airline fares.

The advantages of an eating quality focus throughout the supply chain

An Eating Quality focus can drive transformational change across the entire supply chain through the link between price and consumer outcome. It can also dramatically increase industry revenue and profitability.

For the consumer - Branded beef 'meal' portions offering 'pan ready' guaranteed quality outcomes for different cooking styles can replace cut-based product descriptions which are often confusing to the consumer, require cooking knowledge and unavailable detail of the interaction of farm and processing factors. Increased consumer confidence arising from simpler but concise description of a meal result and purchase experience improves value and demand.

In the boning room - Quality systems based on EUROP description, primal cuts, animal age, dentition and sex can be replaced by EQ technology that predicts the quality of each muscle portion according to its end use. This in turn promotes selection of an optimum boning strategy as price follows satisfaction and drives maximum carcase value. Carcase marshalling is based on common eating quality groupings rather than sex or EUROP grade. Further accuracy and return can be gained by individual cut tracking technologies with the EQ scores linked to piece identification. While the initial boning strategy of reducing a carcase to portions of uniform eating quality may result in additional muscle portions and processing labour, these portions can be grouped into like consumer eating quality by cooking method categories simplifying and reducing final product codes and directly aligning them with customer needs. This can include and improve product grouping for ready meal manufacturers.

Individual carcase value can now be determined by the product weight within each eating quality band. This combination of yield, currently from EUROP classification but likely to be enhanced by new technologies, and eating quality assessment will bring changes to the boning room infrastructure and processes and also in reporting to suppliers as cattle payments can now be based on the true value of each carcase for targeted markets. This enables a producer-to-processor relationship based on open and shared data and closer to an 'open book' partnership than the adversarial nature of past decades.

The opportunity for mutual producer and processor gain is immense due to the largely unrealised but highly significant value range found in groups of visually similar cattle. Polkinghorne (2008a) reported results from a commercial retail to farm supply chain which documented previously unexpected value differences within consignments. These have since been confirmed across very large numbers and indicate potential to dramatically increase industry efficiency through a combination of genetics and management on farm. As advocated by Cross and Savell (1992) these changes will be stimulated by transparent payment systems as evidenced in the dairy industry where milk quantity and components are clearly transmitted and result in continual improvement.

With a rigorous Eating Quality system in place, true value-based trading (VBT) can become the norm with producers paid on the yield and quality of carcase components and related 'value' items including raising claims, market eligibility and individual brand attributes. In a VBT environment industry players along the supply chain experience increased control over their selling price which underpins ongoing investment in improvements to their production system. The paradigm shift from a commodity product traded on averages to true Value Based Trading will drive efficiency improvements in the production and processor sectors, improved customer experiences and a profitable, expanding, consumer focussed industry.

The restraining factor is no longer technology or capability but rather industry culture and caution. Concerted action by the global industry can radically improve the consumer value of beef through improved product consistency and clear meal level description. The future is in our hands!

REFERENCES

- Cross, H.R and Savell, J.W. 1992. What do we need for a value based beef marketing system? Proceedings of 38th International Congress of Meat Science and Technology, 23 – 28 August, 1992, Clermont-Ferrand, France.
- Grunert K.G., Bredahl L. and Brunso K. 2004. Consumer

perception of meat quality and implication for product development in the meat sector – a review. Meat Science 66: 259-272.

- Polkinghorne R., Thompson J.M., Watson R., Gee A. and Porter M. 2008a. Evolution of the Meat Standards Australia (MSA) beef grading system. Australian Journal of Experimental Agriculture 48: 1351-1359.
- Polkinghorne, R., Philpott, J., Gee, A., Doljanin, A. and Innes, J. 2008a. Development of a commercial system to apply the Meat Standards Australia grading model to optimise the return on eating quality in a beef supply chain. Australian Journal of Experimental Agriculture 48 (11): 1451-1458.

¿QUÉ NECESITO PARA MOTIVARME?

José-Hilario Martín

DVM, MSc, Institut Pasteur Diploma, Executive MBA

Leemos y escuchamos con frecuencia –para motivarnos, supongo- que es tiempo de oportunidades y que éstas suelen venir disfrazadas de problemas; y es muy cierto.

Pero a menudo se nos olvida lo que ya sabemos –o deberíamos-, un saber que está al alcance de cualquier profesional de la veterinaria: el enorme privilegio que supone nuestra profesión por la capacidad que nos confiere para aportar felicidad; esto muy pocos pueden decirlo.

Compartimos una maravillosa profesión: sea contribuyendo a mejorar los índices productivos y la rentabilidad de las explotaciones, garantizando la seguridad alimentaria de los consumidores o haciendo saludable y perdurable la convivencia de los propietarios con sus mascotas. Sea cual fuere la actividad a la que nos dedicamos, el fin último de nuestra labor es siempre la mejora de la calidad de vida y el bienestar de los ciudadanos.

Como parece que lo anterior no es suficiente, quizás, el ejercicio más rentable en los tiempos que corren es buscar motivos para seguir luchando. Y esto puede que sea tan sencillo como parar y dedicar unos minutos a tomar conciencia de cómo estoy, lo que tengo, lo que me sobra y lo que me falta. Lo que quiero y lo que realmente necesito, a veces, no suelen coincidir.

La clave está en poner el foco en lo que tenemos en lugar de ponerlo en lo que nos falta. Es tan sólo cuestión de ser consciente de lo que tengo y lo que puedo hacer con ello.

Cada día que entras por la puerta de tu despacho, de tu empresa o de tu cliente, es una inversión –estás invirtiendo una buena parte de ti mismo- y tu eliges dónde hacerlo. Tienes múltiples opciones, pero puede que tan sólo dos sean suficientes: realizar el enorme privilegio que te brinda la profesión que has elegido, e invertir todo lo que esté en tus manos para que tu cliente sienta que es un regalo tenerte.

A saber: el fin último de cualquier empresa, negocio o actividad profesional no es ganar dinero (esto tan sólo es una consecuencia), sino dejar huella en la gente que hace posible nuestro trabajo. Nosotros lo tenemos muy fácil.

¿Para qué hacemos lo que hacemos?

Toda acción humana busca una mejora de algún tipo. Nos movemos siempre por motivos. Cualquier comportamiento tiene por objeto aproximarse al placer y evitar el dolor. Nuestro trabajo también: trabajamos porque pensamos que haciéndolo estaremos mejor.

La voluntad de estar mejor es, siempre y en todos los casos, una necesidad del ser humano; ésta se transforma en deseo cuando identificamos “algo” capaz de satisfacerla; el deseo se convierte en demanda cuando percibimos que la mejora que ese “algo” nos puede aportar merece la inversión que hemos de hacer para tenerlo.

¿Trabajamos (sólo) por dinero?

En nuestra cultura occidental, hay dos valores fundamentales directamente vinculados al dinero: la libertad y la seguridad. Con dinero nos sentimos más libres para poder hacer lo que nos apetezca; con dinero nos sentimos más seguros para hacer frente a cualquier contingencia que nos pueda sobrevenir.

Pero cualquier actividad tiene por objeto satisfacer necesidades: un bienestar físico, un bienestar emocional, un bienestar espiritual, o una combinación de los tres. Cualquier cosa que hagamos busca -normalmente de forma no consciente- saciar alguno de estos tres tipos de bienestar; nuestro trabajo también.

Entendemos por motivación la fuerza que nos impulsa hacia una conducta determinada y deseada (por ejemplo, desarrollar nuestra actividad profesional). Esta fuerza tiene su origen en una percepción de carencia, es decir, en una necesidad insatisfecha que presumiblemente resuelve dicha conducta.

La neurobiología del comportamiento conceptúa la motivación como una función cerebral que asocia una conducta con una recompensa. Mientras que la motivación positiva se asocia con necesidades, carencias o deseos, la negativa tiene que ver con temores o aversiones.

De lo anterior derivamos nuestra actividad profesional como un proceso de motivación, por el que nos damos suficientes motivos para sentir o percibir que lo que hacemos a diario nos acercará al placer (entendido como las emociones positivas que aportan el sentirse útil, el bienestar que brindamos a nuestra familia o la tranquilidad que nos da ganar dinero) y nos evitará el dolor (entendido como las emociones negativas que conllevan la precariedad, el desempleo o el sentirse inútil y fracasado).

Como siempre, tu eliges.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL, FERMENTATIVA Y MICROBIOLOGICA DE FORRAJES Y SUBPRODUCTOS: EVALUACION DE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL Y DESARROLLO DE UN INDICE DE CALIDAD FERMENTATIVA.

Antonio Gallo

Universidad católica de Piacenza

La variabilidad de los precios de la leche y de la alimentación se ha incrementado desde mediados de los anos 80 y representa uno de los mayores desafios que deben controlarse en una explotacion (Valvekar *et al.*, 2010). En particular, los costes asociados a la alimentacion pueden representar desde el 45 % hasta mas del 70% de todos los costes directos e indirectos de una ganadería de leche (Bozic *et al.*, 2012). La maximización de rendimientos/Ha y calidad de los forrajes producidos en la explotación es difícil de estandarizar entre distintos años, pero representa un prerrequisito fundamental para maximizar los resultados económicos o al menos para reducir la entidad de los costes asociados a la alimentación (Buza *et al.*, 2014). Hoy en día los forrajes representan la fuente principal de nutrientes usados para la producción de leche en la mayoría de las explotaciones de leche (Stokes, 2002). Además de proteína y energía los forrajes aportan fibra efectiva, necesaria para promover la masticación y la ruminacion y por tanto para salvaguardar la salud ruminal.

Habitualmente la consideración de la calidad y cantidad de forrajes necesarios para cubrir las necesidades nutritivas es el primer paso en el proceso normal de formulacion de raciones para Ganado lechero. Posteriormente otros ingredientes de la dieta tales como cereales, ingredientes ricos en proteína, subproductos y suplementos se adicionan para equilibrar las contribuciones nutricionales procedentes de los forrajes a la dieta. La importancia de los forrajes como base de las dietas para la producción de leche fue descrita por Paulson hace algunos anos (Paulson J, 2007) como una pirámide revisada de los alimentos para ganado lechero (Figura 1).

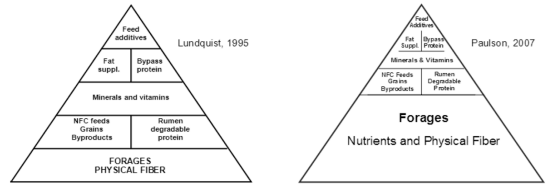


Figura 1. Piramide de alimentacion para vacas lecheras (Paulson , 2007)

Por tanto, la definición mas adecuada de un programa bien planteado de manejo de los forrajes en una explotación de leche debiera derivar de la identificacion del proposito real del uso de los forrajes producidos en la propia explotación en las raciones, asimismo la definición de calidad del forraje debiera incluir desde el manejo de los campos de cultivo, las técnicas de cosechado y conservación hasta finalmente la formulación de las raciones a fin de maximizar la efectividad del forraje.

En cualquier caso la calidad varía mucho entre distintos cortes y también dentro del mismo corte. La evaluación de un forraje habitualmente se basa en distintos factores, principalmente sensoriales (aspecto, olor, tacto) o parámetros laboratoriales (Givens *et al.*, 2000; Spanghero *et al.*, 2017). Mientras que los parámetros sensoriales son subjetivos y dependientes de la experiencia individual, las evaluaciones laboratoriales representan un modo de caracterizar los forrajes usando un gran número de parámetros físico-químicos, fermentativos y microbiológicos. Sin embargo, esta gran cantidad de parámetros usados a menudo hace que la evaluación sea a menudo vaga y dificil de entender, por lo que acaba recibiendo menos atención de la que merece. (Stokes, 2002). Desde este punto de vista, la aplicación de nuevas técnicas estadísticas es útil para generar nuevos indicadores capaces de reducir el numero de parametros usados para la evaluacion de la calidad del forraje y para hacer la evaluación mas objetiva y menos dependiente de la variacion incontrolada de ciertos parámetros específicos.

Todos estos indicadores se desarrollaron con el objetivo de proporcionar una evaluación de la calidad del alimento rápida, fácil de entender y poco costosa ya que el uso de análisis NIR altamente precisos es posible para todos ellos, permitiendo por tanto una monitorización contínua de la calidad nutricional de los forrajes. Los indicadores de evaluación del alimento que se presentaran a continuación cubren diferentes aspectos relacionados con la evaluación de la calidad del forraje tales como las características químico-bioógicas, fermentativas y microbiológicas, pero con toda seguridad no todas las posibles.

Indicador de Energia del Forraje para ensilados y henos.

Los forrajes pueden caracterizarse mediante un gran número de parámetros útiles para computar una adecuada evaluación de la energia, incluyendo rasgos químicos tales como el contenido en fibra, proteína, almidón, cenizas y lípidos, junto con parámetros biológicos tales como evaluaciones de la degradabilidad y/o digestibilidad ruminal. (Schwab *et al.*, 2003). Durante los últimos años se han realizado grandes esfuerzos para mejorar el conocimiento de los mencionados rasgos biológicos, ya que se les considera los mas adecuados parametros para evaluar la calidad nutricional de los forrajes y su contenido en energía (Tabla 1).

En los forrajes, el principal aspecto a considerar es la dinámica de la degradación ruminal de la FND en el compartimento ruminal. Esta evaluación puede realizarse a diferentes intervalos de incubación ruminal mediante el uso de métodos in situ/

in vitro, con intervalos que varían desde muy cortos (3-6h) a muy largos (más de 120h) (Chai *et al.*, 2004; Cotanch *et al.*, 2014). Otro parámetro que juega un importante papel en la caracterización de la dinámica de la degradación ruminal de la FND es la fracción indigestible de la FND (uNDF) (Zontini *et al.*, 2015; Krämer *et al.*, 2012).Sin embargo, la determinación de la uFND requiere mucho tiempo y trabajo en laboratorio, bien sea de investigación o comercial, ya que precisa de tiempos de incubación ruminal muy largos (i.e., 240 up to 516h). Alternativamante la uFND puede estimarse mediante el uso del contenido de lignina de los forrajes multiplicado por un factor fijo igual a 2,4. Desafortunadamente el uso de este factor no es suficientemente preciso para todos los forrajes debido a que varía entre distintos forrajes. En particular el trabajo de Palmonari *et al.* (Palmonari *et al.*, 2016) demostró que el factor multiplicador del contenido de lignina debiera ser 3,11 y 3,22 para obtener una estimación precisa del contenido de uFND para silo de maíz y heno de hierba respectivamente. Un valor de 2,4 se demostró como apropiado solamente para henos de alfalfa. Otro método para evaluar la uFND se basa en la tecnología NIR, considerada una técnica fiable para la obtención de resultados consistentes y precisos con un coste bajo. Alternativamente un método analítico para la obtención de una predicción precisa de la uFND ha sido establecida por el autor (Gallo *et al.*, 2017) mediante el uso de diversas enzimas fibrolíticas que imitan la actividad ruminal.

Junto a la FND ambos proteína bruta (PB) y aminoácidos representan uno de los principales parametros necesarios para una caracterización exhaustiva de los nutrientes aportados por los forrajes, los últimos representando desde el 20 hasta el 60-70% del total del contenido de proteína de la dieta de las raciones complejas usadas (Huhtanen and Hristov, 2009; Cone *et al.*, 2006). En particular, la degradación ruminal de la PB de la dieta influye sobre la fermentación ruminal y el aporte de aminoácidos en los rumiantes. De hecho, la PB no degradable en rumen (RUP), junto con la proteína microbiana sintetizada en el rumen y la proteína endógena conforman la Proteína Metablizable (PM) que llega al intestino delgado (Sauvant and Nozière, 2015; Boucher *et al.*, 2009). La evaluación de la cantidad de RUP aportada por la dieta junto con la digestibilidad intestinal de dicha RUP son importantes parametros requeridos por diferentes sistemas de evaluacóon del alimento (Broderick, 1995; Edmunds *et al.*, 2014). Se ha señalado una muy alta variabilidad al medir los antes mencionados parametros en forrajes producidos en la explotación, lo que sugiere que el uso de valores tabulares podría ser causa de error. De manera similar también se ha comprobado una alta variabilidad en la cuantificación de la degradabilidad ruminal de distintos aminoácidos específicos y su disponibilidad intestinal. Metodos específicos in vitro (Stern *et al.*, 1997; Paz *et al.*, 2014; Cone *et al.*, 2006) o enfoques basados en el uso de enzimas (Gallo *et al.*, 2018; Edmunds *et al.*, 2012) podrían por tanto ser apropiados para la caracterización de estos parámetros en forrajes.

Por último, ensilados tales como el de pastone de grano o integral, maíz, sorgo o pequeños cereales se caracterizan por valores de degradación ruminal del almidón más elevados que los de sus contrapartidas en grano ya que se cosechan en un estado de maduración más temprano (Ferraretto and Shaver, 2012; Giuberti *et al.*, 2015; Gallo *et al.*, 2014). Al igual que en el caso de FND y PB la cantidad de almidón degradado en el rumen varía ampliamente entre distintos forrajes y también dentro de la misma categoria. A fin de obtener información sobre la entidad de la degradación ruminal del almidón de un producto dado podrían usarse métodos específicos in vitro, aunque se caracterizan por una muy pobre consistencia intra e interlaboratorial (Gallo *et al.*, 2016b; Chai *et al.*, 2004). El desarrollo de nuevos métodos basados exclusivamente en el uso de enzimas comerciales es una de las principales actividades a las que se dedica actualmente nuestro grupo de investigación.

Tabla 1. Principales características químicas y biológicas de diferentes henos y ensilados

Parametros	u.m.	Henos alfalfa	Henos hierba	Silos maiz	Silos cereal	Silos sorgo	Maiz alta humedad
Evaluaciones fibra							
FND	% DM	49.4± 7.4	62.5± 5.3	45.3± 4.6	63.0± 6.2	67.7± 4.5	10.3± 2.7
12h dFND	% DM	10.9± 3.3	14.7± 3.3	8.7± 2.9	12.0± 2.2	13.6± 3.3	
24h dFND	% DM	19.3± 5.3	26.2±3.5	19.8± 6.1	22.6± 4.2	25.1± 5.2	
48h dFND	% DM	22.8± 5.3	34.6± 3.8	28.5± 5.0	33.2± 5.1	34.9± 5.3	
uFND	% DM	27.1± 5.9	23.3± 4.7	12.1± 3.8	21.5± 3.8	19.3± 3.3	
Evaluaciones PB							
RUP	% CP	43.2± 6.8	34.3± 4.7	34.3± 4.3	31.2± 5.2	35.6± 3.2	33.2± 4.5
Digestibilidqd intestinal RUP	% RUP	42.6± 10.1	44.3± 7.8	55.2± 6.4	46.3± 3.5	47.8± 3.4	58.4± 17.7
Evaluaciones almidon							
7h IVSD	% starch	-	-	72.3± 8.9	-	-	-
uAlmidon	% starch			<1-2%	-	-	-

En cuanto al recientemente desarrollado Indicador de Energia del Forraje (figura 2) se basa solamente en dos parámetros químicos para henos (FND y cenizas) o tres parámetros químicos para ensilados (FND, almidón y cenizas) más un parámetro biológico en todos los casos (uNDF) (Gallo *et al.*, 2013). En particular, la uNDF ha resultado ser el parámetro biológico más útil para obtener una evaluación de la energía de los diferentes tipos de forrajes por lo que se incluyó en el cálculo del indicador. Consecuentemente, este indicador require de un número limitado de inputs si se compara con otros enfoques usados en importantes modelos de nutrición animal. El Indicador de Energia del Forraje permite la obtención de una evaluación fiable del contenido en energía, permitiendo de esta manera la clasificación de los forrajes en cuanto a su calidad.

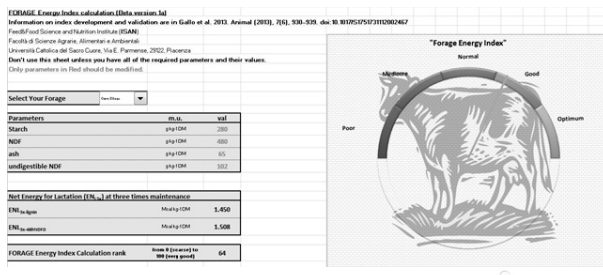


Figure 2. Ejemplo de la herramienta Indicador de Energia del Forraje. Example of Forage Energy Index calculation tool. La hoja Excel puede descargarse en https://www.

researchgate.net/publication/280312456_FORAGE_Energy_Index o enviando una peticion al autor.

Indice de Calidad Fermentativa para silos de maiz

La calidad fermentativa de un ensilado es un aspecto importante a tener en cuenta al valorar si el proceso de ensilado se ha llevado a cabo correctamente. Esto es debido a que el procedimiento de ensilado no esta estandarizado entre distintas granjas y se utilizan diferentes procedimientos de ensilado y almacenamiento. En la extensa revisión realizada por Muck (Muck, 1988) se cita como un inapropiado manejo del ensilado, -incluyendo pero no limitado a un contenido inadecuado de material seca (MS) al momento del corte, lento relleno del silo, sellado imperfecto, deficiente compresión de la masa, caída tardia del pH, penetración de aire o técnicas y/o equipamiento de desensilado-, puede comprometer las diferentes fases del ensilado exponiendo el silo al riesgo de penetración de aire (Bernardes and do Rêgo, 2014; Borreani *et al.*, 2018; Muck, 1988). En particular, el deterioro aerobico puede provocar pérdidas de MS y nutrientes, daño térmico de nutrientes, proteolisis, proliferación de microorganismos perjudiciales –tales como hongos micotoxigénicos- y producción de toxinas relacionadas (Gallo *et al.*, 2015c). Además, los efectos negativos debidos a la actividad aeróbica pueden ser más serios en deterrminadas áreas del silo, especialmente en las partes laterales y apicales, partes que generalmente se pisan y sellan con dificultad Furthermore, the negative effects due to aerobic activity could be more serious in specific areas of silage, (Weiss *et al.*, 2016; Borreani and Tabacco, 2010; Gallo *et al.*, 2015a). De hecho, además de las variaciones en la composición química y nutritiva, cambios en las características de la fermentación tales como en el pH o contenido en ácido láctico, ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno amoniacal (NH3-N) y etanol pueden afectar al consumo voluntario de MS del ensilado (IMS), palatabilidad y utilización de los nutrientes en el tracto gastrointestinal y consecuentemente afectar a la producción de leche y a sus características organolépticas. Normalmente todas estas determinaciones se usan conjuntamente para obtener una visión general de las condiciones durante el proceso de ensilado o desensilado, ofreciendo, información sobre la tasa y cantidad de fermentaciones favorables o no ocurridas durante las distintas fases del proceso. Por tanto, se han propuesto índices de calidad fermentativa tales como los Flieg–Zimmer's, Vanbelle y Bertin o DLG (Flieg, 1938; Vanbelle and Bertin, 1985; Dlg-schlüssel and Gärqualität, 2006) para clasificar los forrajes en escalas variando entre bien y mal conservados. (figure 3). De todas maneras, algunos hechos asumidos en estos índices están aún bajo debate, y se reconoce que estos índices pueden contribuir a la obtención de resultados ambiguos ya que, frecuentemente, silos de maíz pobremente fermentados pueden ser clasificados como buenos o incluso óptimos (Gallo *et al.*, 2015a).

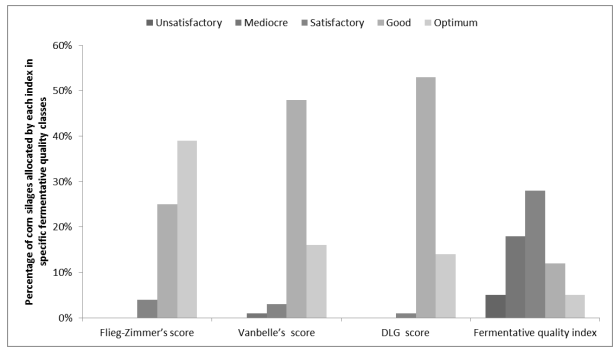


Figura 3. Porcentaje de silos de maiz clasificados en distintas calidades segun diferentes indices de calidad fermentativa.

Por el contrario, el uso de nuevas tecnicas analíticas tales como Cromatografia líquida de alta eficacia (HPLC), Cromatografía de gases (GC) y Espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) junto con nuevas perspectivas en cuanto a la definición de la calidad fermentativa de los silos de maiz ha dado la oportunidad de revisar estos viejos índices, contribuyendo por tanto al desarrollo por parte de nuestro grupo de investigación de un nuevo índice, llamado Indice de Calidad Fermentativa (FQI, (Gallo *et al.*, 2015b)). El FQI necesita la cuantificación de 10 parámetros, más que los usados en el cálculo de las puntuaciones de Flieg–Zimmer, Vanbelle o DLG. En particular, los parámetros necesarios para clasificar la calidad fermentativa del silo de maíz se relacionan con los aspectos fermentativos (es decir, pH, NH3-N, ácidos láctico, propiónico, acético, butírico, valérico, isovalérico e isobutírico) y cuantificación de la proteína soluble. El uso de un más elevado número de parámetros para el cálculo del FQI debiera garantizar una más precisa predicción de la calidad fermentative real de los silos de maíz y por tanto debiera ser útil para discriminar major entre silos mal y bien fermentados, como se muestra en la figura 4.

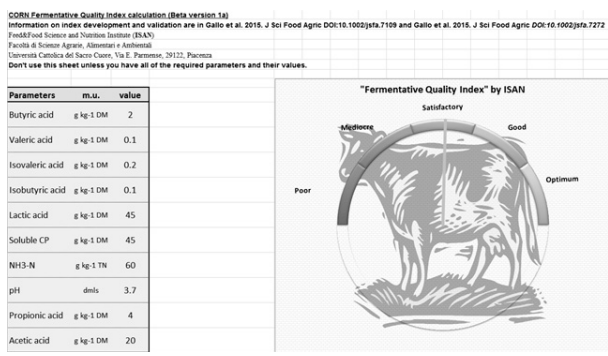


FigurA 4. Ejemplo de la herramienta de calculo del Indice de Calidad Fermentativa. La hoja Excel pude descargarse https://www.researchgate.net/publication/277901600_CORN_Fermentative_Quality_Index o enviando una peticion al autor.

Riesgo microbiológico por Clostridia en silos de maíz

Los clostridios butíricos están a menudo asociados con la producción tardia de gas y fermentación ácida butírica en la producción de quesos duros (Bassi *et al.*, 2013; Spoelstra, 1983). Entre los distintos clostridios, se considera a Clostridium tyrobutyricum como el mayor responsible de este tipo de deterioro de alimento.

Vissers (Vissers *et al.*, 2006) desarrolló un modelo de simulación al objeto de identificar los factores más importantes a nivel

de granja relacionados con las concentraciones de bacterias butíricas en el tanque de leche. Como resultado de la simulación el nivel de contaminación microbiana del ensilado parece ser el factor más importante, lo que sugiere que las bacterias butíricas encuentran en este tipo de alimento almacenado las mejores condiciones para su desarrollo y crecimiento. Concretamente, el manejo incorrecto de los ensilados puede resultar en mayor penetración de aire en la masa, exponiendo por tanto el ensilado a contaminación por parte de diversos microorganismos indeseables. El mecanismo causante de esta proliferación todavía no esta claramente establecido, pero se cree que la actividad de levaduras aeróbicas en un área caracterizada por una deficiente conservación puede inducir una vuelta a condiciones anaeróbicas que estimulan el crecimiento de C. tyrobutirricum. Para obtener una evaluación real del riesgo de contaminación del silo de maíz por parte de C. tyrobutyricum se ha desarrollado un índice que usa rasgos específicos relacionados con el ensilado y sus características químicas, biológicas y fermentativas como factores que explican la presencia de C. tyrobutyricum (Gallo *et al.*, 2016a). Al objeto de predecir la contaminación por C. tyrobutyricum en silos de maíz se usaron 9 predictores (Figura 5). Para mejorar la precisión de la predicción existe una versión ampliada de este índice usando 15 predictores que incluyen las principales características del ensilado (tipo de bunker, presencia de capa de plástico en los laterales y densidad de la masa), MS, algunos de los rasgos fermentativos y conteo de levaduras y hongos.

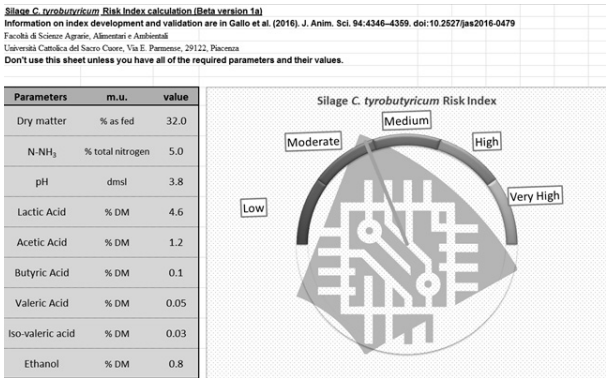


Figura 5. Ejemplo de la herramientq de calculo del Riesgo de contaminacion de ensilados por *C. tyrobutyricum.* La hoja Excel puede descargarse en https://www.researchgate.net/publication/323689256_Silage_Cl_tyrobutyricum_Risk_Index o enviando una peticion al autor.

Índice de contaminación por micotoxinas en silos de maíz

Las micotoxinas se definen como moléculas de bajo peso molecular producidas por hongos y que provocan un efecto tóxico en seres humanos y en animales cuando se produce una exposición a través de una vía natural de contacto. Son a menudo moléculas muy estables y todas ellas son metabolitos secundarios de hongos pertenecientes a diversos generos, en particular Aspergillus, Fusarium y Penicillium spp. (Placinta *et al.*, 1999). Ademas, otros generos como Alternaria, Chaetomium, Cladosporium, Claviceps, Diplodia, Myrothecium, Monascus, Phoma, Phomopsis, Pithomyces, Trichoderma y Stachybotrys incluyen especies micotoxigénicas (Cole and Cox, 1981). Generalmente el término micotoxicosis se refiere a los síntomas resultantes de la ingestión, contacto cutáneo o inhalación de estos metabolitos fúngicos.Cuando el ganado ingiere una o más micotoxinas, el efecto puede llegar a ser agudo, en el sentido de la presentación de síntomas evidentes de enfermedad o incluso la muerte. Los efectos de las micotoxinas causan importantes pérdidas económicas debido a cambios no patognomónicos en el crecimiento, disminución en el consumo de alimento o su rechazo, alteración en la absorción y metabolismo de los nutrientes, efectos sobre el sistema endocrino y supresión del sistema inmune (Fink-Gremmels, 2008).

Los rumiantes son menos susceptibles que los monogástricos a las micotoxinas ya que la microbiota ruminal puede ser efectiva en la degradación, deactivación y adsorción de estas moléculas tóxicas. De todas maneras, las dietas de los ruminates incluyen fuentes de almidón (principalmente cereales) y alimentos proteicos, sus subproductos y además pasto, heno y ensilados de hierba, gramíneas/legumbres, maíz, otros cereales y sorgo, lo que incrementa el riesgo de exposición a micotoxinas en comparación con porcino o aves donde las dietas usadas son menos variadas (Gallo *et al.*, 2015c).

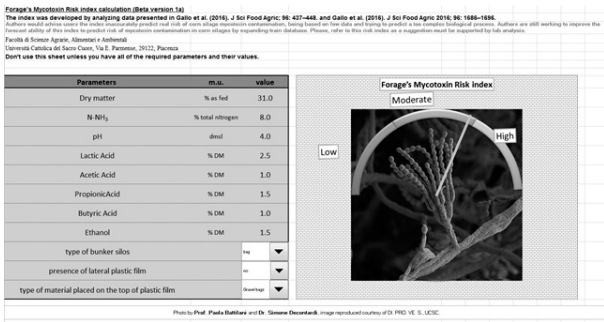
Pruebas recientes sugieren que la mayor exposición a micotoxinas reguladas legalmente en vacuno de leche pudiera relacionarse a la contaminación del forraje, si bien este aspecto requiere más investigación que la actualmente disponible (Cheli *et al.*, 2013; Mostrom and Jacobsen, 2011). Concretamente, el número de artículos publicados sobre la presencia de micotoxinas en henos y ensilados es muy limitado comparado con los articulos que analizan la problematica de la contaminación por micotoxinas en cereales. Más aún, muchos otros metabolitos secundarios además de las micotoxinas reguladas pueden detectarse en los forrajes, incluso si nuestro conocimiento acerca de su ocurrencia es actualmente limitado.

Los tres generos toxigénicos más importantes pre-cosecha son Aspergillus, Fusarium y quizá Alternaria spp. La presentación de estos hongos en el campo se relaciona con diversos factores, incluyendo las prácticas agronómicas y las condiciones metereológicas. Durante el ensilado la mayoría de los hongos pueden eliminarse, aunque las micotoxinas producidas se mantienen presentes. Sin embargo, hay otras especies tales como Aspergillus fumigatus, Penicillium roqueforti, P. paneum, F. oxysporum y Monascus ruber capaces de tolerar altas concentraciones de ácidos orgánicos y dioxido de carbono, además de baja disponibilidad de oxigeno (Rasmussen *et al.*, 2011; Fink-Gremmels and Diaz, 2005). En concreto, la presencia de oxigeno en algunas partes del ensilado durante la fase de almacenamiento o su penetración durante la fase de utilización y de deterioro aeróbico, puede permitir el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas. En ensilados de alta calidad las bacterias productoras de ácido láctico son capaces de impedir el crecimiento de hongos, pero un pequeño aumento en la concentración de oxígeno puede ya provocar condiciones adecuadas para el crecimiento de hongos como P. roqueforti and P. paneum. De hecho, Indeed,si la mayor parte de los ácidos acético y láctico y del dióxido de carbono se evaporaran y mas oxígeno estuviera presente, casi todos los hongos filamentosos asociados al cereal serían capaces de desarrollarse.

Se ha señalado una considerable variabilidad en la presencia de micotoxinas y en sus concentraciones en forrajes. Esto probablemente es debido a una gran cantidad de factores relacionados con el ambiente (por ejemplo, condiciones metereológicas, prácticas agronómicas, procedimientos de ensilaje, manejo del forraje, tipo de forraje, etc.) o con el analisis (procedimientos muestreo, almacenamiento y preparacion de las muestras, métodos analíticos, etc.).

Sin embargo, algunas características del silo pueden se útiles para la obtención de información sobre el riesgo de contaminación por micotoxinas en ensilados. Con este objetivo específico se desarrollo un ´

indice de Riesgo por Micotoxinas en Silos de Maíz basado en rasgos de fermentación (Materia Seca, pH, ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico; ácido butírico, etanol) y características del proceso de ensilado (tipo de ensilado, presencia de capa plástica lateral, tipo de material usado sobre la cobertura plástica), lo que se relaciona con contaminación debida a micotoxinas específicas tales como las producidas por Fusarium spp (DON, Fumonisinas, Zearalenona, etc.) o Penicillium spp. (Acido Micofenolico, Roauefortina C, toxina PR, etc). En este punto los usuarios deben considerar que el Índice de Riesgo por Micotoxinas puede predecir equivocadamente el riesgo real de contaminación del silo de maíz, ya que su calibración se basa en un input de pocos datos para la predicción de un proceso biológico tan complejo (figura 6). Por tanto, este índice debiera usarse para la obtención de una sugerencia del riesgo de contaminación por micotoxinas del silo de maíz, pero se recomienda fuertemente apoyar los resultados obtenidos con análisis laboratoriales.


Forage's Mycotoxin Risk index calculation (Beta version 1a)

The index was developed by analyzing data presented in Gallo et al. (2016). J Sci Food Agric; 96: 427–448. and Gallo et al. (2016). J Sci Food Agric 2016; 96: 1686–1696.

Authors would advise users the index inaccurately predict risk of corn silage mycotoxin contamination, being based on few data and trying to predict a too complex biological process. Authors are still working to improve the forecast ability of this index to predict risk of mycotoxin contamination in corn silages by expanding train database. Please, refer to this risk index as a suggestion must be supported by lab analysis.

Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali
Università Cattolica del Sacro Cuore, Via E. Parmense, 29122, Piacenza

Don't use this sheet unless you have all of the required parameters and their values.

Parameters	m.u.	value
Dry matter	% as fed	31.0
N-NH_3	% total nitrogen	8.0
pH	dmnl	4.0
Lactic Acid	% DM	2.5
Acetic Acid	% DM	1.0
PropionicAcid	% DM	1.5
Butyric Acid	% DM	1.0
Ethanol	% DM	1.5
type of bunker silos		
presence of lateral plastic film		
type of material placed on the top of plastic film		

Photo by Prof. Paola Battilani and Dr. Simone Decontardi, image reproduced courtesy of DI. PRO. VE. S., UCSC.

Figura 6. Ejemplo de la herramienta Indice de Riesgo por Micotoxinas en Silos de Maiz. La hoja Excel puede descargarse en https://www.researchgate.net/publication/323689155_Silage_Mycotoxin_Risk_Index enviando una peticion al autor.

BIBLIOGRAFIA

- Bassi, D., C. Fontana, S. Zucchelli, S. Gazzola, and P.S. Cocconcelli. 2013. TaqMan real time-quantitative PCR targeting the phosphotransacetylase gene for Clostridium tyrobutyricum quantification in animal feed, faeces, milk and cheese. *Int. Dairy J.* 33:75–82. doi:10.1016/j.idairyj.2013.06.008.
- Bernardes, T.F., and A.C. do Rêgo. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97:1852–61. doi:10.3168/jds.2013-7181.
- Borreani, G., and E. Tabacco. 2010. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *J. Dairy Sci.* 93:2620–2629. doi:10.3168/jds.2009-2919.
- Borreani, G., E. Tabacco, R.J. Schmidt, B.J. Holmes, and R.E. Muck. 2018. Silage review : Factors affecting dry matter and quality losses in silages 1. *J. Dairy Sci.* 101:3952–3979. doi:10.3168/jds.2017-13837.
- Boucher, S.E., S. Calsamiglia, C.M. Parsons, H.H. Stein, M.D. Stern, P.S. Erickson, P.L. Utterback, and C.G. Schwab. 2009. Intestinal digestibility of amino acids in rumen-undegraded protein estimated using a precision-fed cecectomized rooster bioassay: II. Distillers dried grains with solubles and fish meal. *J. Dairy Sci.* 92:6056–67. doi:10.3168/jds.2008-1885.
- Bozic, M., J. Newton, C.S. Thraen, and B.W. Gould. 2012. Mean-reversion in income over feed cost margins: Evidence and implications for managing margin risk by US dairy producers. *J. Dairy Sci.* 95:7417–7428. doi:10.3168/jds.2012-5818.
- Broderick, G.A. 1995. Desirable characteristics of forage legume for improving protein utilisation in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2760–2773.
- Buza, M.H., L.A. Holden, R.A. White, and V.A. Ishler. 2014. Evaluating the effect of ration composition on income over feed cost and milk yield. *J. Dairy Sci.* 97:3073–3080. doi:http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7622.
- Chai, W.Z., a. H. Van Gelder, and J.W. Cone. 2004. Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114:195–204. doi:10.1016/j.anifeedsci.2003.11.014.
- Cheli, F., A. Campagnoli, and V. Dell'Orto. 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 183:1–16. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.01.013.
- Cole, R.J., and R.H. Cox. 1981. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. Academic Press, editor. Elsevier. ix-x pp.
- Cone, J.W., A.H. Van Gelder, A.A. Mathijssen-Kamman, and V.A. Hindle. 2006. Post-ruminal digestibility of crude protein from grass and grass silages in cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128:42–52. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.09.012.
- Cotanch, K.W., R.J. Grant, M.E. Van Amburgh, A. Zontini, M. Fustini, A. Palmonari, and A. Formigoni. 2014. Applications of uNDF in Ration Modeling and Formulation.
- Dlg-schlüssel, T.B., and B. Der Gärqualität. 2006. Grobfutterbewertung.
- Edmunds, B., H. Spiekers, K.H. Südekum, H. Nussbaum, F.J. Schwarz, and R. Bennett. 2014. Effect of extent and rate of wilting on nitrogen components of grass silage. *Grass Forage Sci.* 69:140–152. doi:10.1111/gfs.12013.
- Edmunds, B., K.-H. Südekum, H. Spiekers, and F.J. Schwarz. 2012. Estimating ruminal crude protein degradation of forages using in situ and in vitro techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 175:95–105. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.04.003.
- Ferraretto, L.F., and R.D. Shaver. 2012. Meta-analysis : Effect of corn silage harvest practices on intake , digestion , and milk production by dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 28:141–149.
- Fink-Gremmels, J. 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Addit. Contam. Part A. Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 25:172–180. doi:10.1080/02652030701823142.
- Fink-Gremmels, J., and D.E. Diaz. 2005. Mycotoxins in forages. *In* The mycotoxin blue book. D.E. Diaz, editor. Nottingham University Press. 249–268.
- Flieg, O. 1938. A key for the evaluation of silage samples. *Futterbau und Giirfutterbereitung.* 1:112–128.
- Gallo, A., D. Bassi, R. Esposito, M. Moschini, P.S. Cocconcelli, and F. Masoero. 2016a. Relationships among ensiling, nutritional, fermentative, microbiological traits and clostridium tyrobutyricum contamination in corn silages addressed with partial least squares regression. *J. Anim. Sci.* 94:4346–4359. doi:10.2527/jas2016-0479.

- Gallo, A., T. Bertuzzi, G. Giuberti, M. Moschini, S. Bruschi, C. Cerioli, and F. Masoero. 2015a. New assessment based on the use of principal factor analysis to investigate corn silage quality from nutritional traits, fermentation end products and mycotoxins. *J. Sci. Food Agric.* [Epub ahead of print] DOI:10.1002/jsfa.7109. doi:10.1002/jsfa.7109.
- Gallo, A., P. Fortunati, S. Bruschi, G. Giuberti, and F. Masoero. 2018. Use of central composite design to optimize working conditions of Streptomyces griseus enzymatic method in estimating in vitro rumen undegraded crude protein of feedstuffs. *J. Agric. Sci.* 156:100–109. doi:10.1017/S0021859617000910.
- Gallo, A., G. Giuberti, S. Bruschi, P. Fortunati, and F. Masoero. 2015b. Use of principal factor analysis to generate a corn silage fermentative quality index to rank well- or poorly-preserved forages. *J. Sci. Food Agric.* [Epub ahead of print] DOI:10.1002/jsfa.7272. doi:10.1002/jsfa.7272.
- Gallo, A., G. Giuberti, S. Bruschi, P. Fortunati, and F. Masoero. 2017. Technical note: Relationship between in situ NDF degradability and enzymatic NDF hydrolysis in forages, nonforage fibrous feeds, and crop residues. *J. Anim. Sci.* 95. doi:10.2527/jas.2017.1630.
- Gallo, A., G. Giuberti, J. Frisvad, T. Bertuzzi, and K. Nielsen. 2015c. Review on Mycotoxin Issues in Ruminants: Occurrence in Forages, Effects of Mycotoxin Ingestion on Health Status and Animal Performance and Practical Strategies to Counteract Their Negative Effects. *Toxins (Basel).* 7:3057–3111. doi:10.3390/toxins7083057.
- Gallo, A., G. Giuberti, and F. Masoero. 2016b. Gas production and starch degradability of corn and barley meals differing in mean particle size. *J. Dairy Sci.* 99:4347–4359. doi:10.3168/jds.2015-10779.
- Gallo, A., G. Giuberti, F. Masoero, A. Palmonari, L. Fiorentini, and M. Moschini. 2014. Response on yield and nutritive value of two commercial maize hybrids as a consequence of a water irrigation reduction. *Ital. J. Anim. Sci.* 13. doi:10.4081/ijas.2014.3341.
- Gallo, A., M. Moschini, C. Cerioli, and F. Masoero. 2013. Use of principal component analysis to classify forages and predict their calculated energy content. *Animal*. 7:930–939. doi:10.1017/S1751731112002467.
- Giuberti, G., A. Gallo, M. Moschini, and F. Masoero. 2015. New insight into the role of resistant starch in pig nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 201:1–13. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.01.004.
- Givens, D.I., E. Owen, H.M. Omed, and R.F.E. Axford. 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.
- Huhtanen, P., and a N. Hristov. 2009. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3222–3232. doi:10.3168/jds.2008-1352.
- Krämer, M., M.R. Weisbjerg, P. Lund, C.S. Jensen, and M.G. Pedersen. 2012. Estimation of indigestible NDF in forages and concentrates from cell wall composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 177:40–51. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.07.027.
- Mostrom, M.S., and B.J. Jacobsen. 2011. Ruminant mycotoxicosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 27:315–344. doi:10.1016/j.cvfa.2011.02.007.
- Muck, R.E. 1988. Factors Influencing Silage Quality and Their Implications for Management. *J. Dairy Sci.* 71:2992–3002. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79897-5.
- Palmonari, A., A. Gallo, and M. Fustini. 2016. Estimation of the indigestible fiber in different forage types. 248–254. doi:10.2527/jas2015-9649.
- Paulson J. 2007. Forage quality affects profitability.
- Paz, H.A., T.J. Klopfenstein, D. Hostetler, S.C. Fernando, E. Castillo-Lopez, and P.J. Kononoff. 2014. Ruminal degradation and intestinal digestibility of protein and amino acids in high-protein feedstuffs commonly used in dairy diets. *J. Dairy Sci.* 97:6485–98. doi:10.3168/jds.2014-8108.
- Placinta, C.M., J.P.F. D'Mello, and A.M.C. MacDonald. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:21–37. doi:10.1016/S0377-8401(98)00278-8.
- Rasmussen, R.R., P.H. Rasmussen, T.O. Larsen, T.T. Bladt, and M.L. Binderup. 2011. In vitro cytotoxicity of fungi spoiling maize silage. *Food Chem. Toxicol.* 49:31–44. doi:10.1016/j.fct.2010.09.007.
- Sauvant, D., and P. Nozière. 2015. Quantification of the main digestive processes in ruminants: the equations involved in the renewed energy and protein feed evaluation systems. *Animal*. 1–16. doi:10.1017/S1751731115002670.
- Schwab, E.C., R.D. Shaver, J.G. Lauer, and J.G. Coors. 2003. Estimating silage energy value and milk yield to rank corn hybrids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109:1–18. doi:10.1016/S0377-8401(03)00210-4.
- Spanghero, M., G. Magni, E. Boselli, M. Piombino, F. Mason, and G. Cozzi. 2017. Prediction of metabolisable energy content of commercial total mixed rations (TMR) for lactating dairy cows based on gas production measured into two TMR fractions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 226:65–70. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.01.010.
- Spoelstra, S.F. 1983. Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 34:145–152. doi:10.1002/jsfa.2740340206.
- Stern, M.D., A. Bach, S. Calsamiglia, M.D. Stern, A. Bach, and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants . The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : Alternative Techniques for Measuring Nutrient Digestion in Rumi. *J. Anim. Sci.* 75:2256–2276.
- Stokes, S. 2002. The Importance of Forage Quality for Milk Production and Health. 14:207–215.
- Valvekar, M., V.E. Cabrera, and B.W. Gould. 2010. Identifying cost-minimizing strategies for guaranteeing target dairy income over feed cost via use of the Livestock Gross Margin dairy insurance program. *J. Dairy Sci.* 93:3350–3357. doi:10.3168/jds.2009-2815.
- Vanbelle, M., and G. Bertin. 1985. L'ensilage, aspects biologiques nouveaux.
- Vissers, M.M.M., F. Driehuis, M.C. Te Giffel, P. De Jong, and J.M.G. Lankveld. 2006. Improving Farm Management by Modeling the Contamination of Farm Tank Milk with Butyric Acid Bacteria. *J. Dairy Sci.* 89:850–858. doi:http://

dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72148-8.

- Weiss, K., B. Kroschewski, and H. Auerbach. 2016. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. *J. Dairy Sci.* 99:8053–8069. doi:10.3168/jds.2015-10323.
- Zontini, A., A. Foskolos, D.A. Ross, J. Metcalf, P.H. Doane, and M.E. Van Amburgh. 2015. Research Update: Formulating Diets for Lactating Cattle Using Multiple Pools of NDF Digestibility. *In* Cornell procediings. 189–196.

ENGLISH VERSION

Evaluation of nutritive, fermentative and microbiological quality of forages and by-products: evaluation of rumen degradability and development of a fermentative quality index.

Antonio Gallo

Department of Animal Science, Food and Nutrition (DIANA); Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali; Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense, 84, 29100 Piacenza, Italy.

Variability in milk and feed prices has increased since the mid-1980s and it represents one of the main economic challenges that should be controlled at a dairy farm level (Valvekar *et al.*, 2010). In particular, feed-associated costs can represent from 45 % to more than 70% of all direct and indirect costs of a dairy farm (Bozic *et al.*, 2012). Even if the maximization of both yield and quality of the home-grown forages is difficult to be standardized from year to year, it represents a fundamental prerequisite to maximize farm profit or at least reduce the entity of feed-associated costs (Buza *et al.*, 2014). Nowadays, forages are the major source of nutrients used for milk production in the majority of dairy farms (Stokes, 2002). Other than protein and energy, forages provide energy and effective fiber, the latter promoting chewing and rumination activities and consequently safeguarding rumen health. Usually, quality and amount of forages needed to meet nutrient requirements must be considered as the first step in the normal process of diet formulation for dairy cattle. Then, other dietary ingredients such as cereals, protein-rich feeds, by-products and other supplements are added to balance the nutrient contributions of forages to the diet. The importance of forages as the basis of dairy diets was described by Paulson some years ago (Paulson J, 2007) in a revised feeding pyramid for dairy cattle (Figure 1).

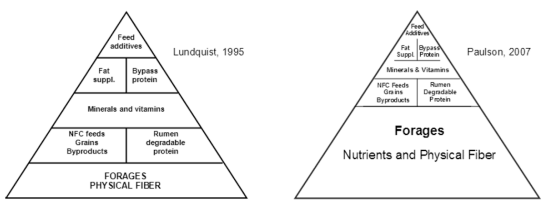


Figure 1. The Feed Pyramid for dairy cows (reported by Paulson , 2007)

Therefore, the proper definition of a well-planned forage management program at a dairy farm level should derive from the identification of the real purpose of the use of home-grown forages in the rations, the definition of forage quality as it originates from crop field management, harvest techniques and storage strategies and finally ration formulation to maximize forage value.

Anyway, quality varies greatly among and within forage crops and its accurate evaluation is usually based on different factors, mainly sensorial (sight, smell, touch) or lab parameters (Givens *et al.*, 2000; Spanghero *et al.*, 2017). While sensorial parameters are subjective and related to individual experience, lab evaluations represent a way to characterize forages using a wide variety of physico-chemical, biological, fermentative and microbiological parameters. Nevertheless, the huge number of parameters used to assess forage quality often makes the evaluation of forages vague and hard to understand, thus receiving less consideration than what it really deserves (Stokes, 2002). Within this perspective, new-introduced statistical techniques (i.e., multivariate approaches) applied to feed quality evaluation are useful to generate new indexes able to reduce the number of parameters used to assess forage quality and make feed evaluation objective and less related to uncontrolled variation in specific parameters.

All these indexes were developed with the aim to provide a rapid, inexpensive and easy-to-understand evaluation of feed quality, as a highly accurate calibration by NIR technique is possible for all of them, thus permitting a continuous monitoring of forages nutritional quality at a farm level. The feed evaluation indexes that are going to be presented here cover different aspects related to forage quality evaluations, such as chemical-biological, fermentative and microbiological traits, but surely not all.

Forage Energy index of silages and hays.

Forages can be characterized by a huge number of parameters useful to compute a proper energy evaluation, including chemicals such as fiber, protein, starch, ash and lipid contents as well as a variety of biological parameters, being rumen degradability and/or digestibility evaluations (Schwab *et al.*, 2003; Van Amburgh *et al.*, 2015; Higgs *et al.*, 2015). In the last few years, much effort has been carried out to improve knowledge about the aforementioned biological traits, being considered as the most suitable parameters to evaluate the nutritional quality of forages and their energy content (Table 1).

On forages, the main aspect that should be considered is the dynamic of NDF degradability into the rumen compartment (White *et al.*, 2017; Du *et al.*, 2016). These evaluations could be carried out at the different time of rumen incubation by adopting in situ/in vitro rumen-based methods, with time intervals of rumen incubation ranging from very short (i.e., 3 or 6h) to very long (i.e., higher than 120h) (Chai *et al.*, 2004; Cotanch *et al.*, 2014). Another parameter playing an import role in characterizing the dynamic of NDF rumen degradability is the undigestible NDF fraction (uNDF) (Zontini *et al.*, 2015; Krämer *et al.*, 2012). However, uNDF determination is time-consuming and laborious for both research and commercial labs, requiring long rumen incubation times (i.e., 240 up to 516h). Alternatively, the uNDF could be estimate by using the lignin content of forages by multiplying it by a fixed factor equal to 2.4. Unfortunately, the use of this factor is not accurate for all forages since it can vary among forage types. In particular, a recent published study (Palmonari *et al.*, 2016) showed that the lignin-multiplying factor should be 3.11 and 3.22 to obtain an accurate estimate of uNDF for corn silage and grass hays, respectively, whereas a value of 2.4 appeared as appropriate exclusively for alfalfa hays. Another method to evaluate uNDF is based on NIR technology, the latter considered as a reliable apparatus allowing for obtaining consistent and accurate results at low cost. Alternatively, an analytical method to obtain an accurate prediction of uNDF has been established by our research group (Gallo *et al.*, 2017) by

using different fibrolytic enzymes mimicking the rumen activity.

Besides NDF, both crude protein (CP) and amino-acids represent one of the main parameters required for a comprehensive characterization of nutrients provided by forages, the latter accounting for 20 up to 60-70% of the total dietary protein content of complex diets fed to animals (Huhtanen and Hristov, 2009; Cone *et al.*, 2006). In particular, rumen degradation of dietary feed CP influences rumen fermentation and amino-acid supply to ruminants. Indeed, rumen-undegraded CP (RUP) together with rumen-synthesized microbial CP and endogenous CP contribute to the passage of metabolizable protein (MP) to the small intestine (Sauvant and Nozière, 2015; Boucher *et al.*, 2009). Evaluation of the amount of dietary RUP as well as intestinal availability of RUP are important parameters required by different feed evaluation systems (Broderick, 1995; Edmunds *et al.*, 2014) to properly characterize feeds entering dairy cow diets. A very high variability has been reported when measuring the aforementioned items on home-grown forages, thus suggesting that the use of tabular values from nutritional datasets could be misleading. Similarly, a higher variability is also measured in the quantification of the rumen degradability of specific amino-acids and their intestinal availability. Specific rumen-based in vitro methods (Stern *et al.*, 1997; Paz *et al.*, 2014; Cone *et al.*, 2006) or enzymatic approaches (Gallo *et al.*, 2018; Edmunds *et al.*, 2012) could be therefore suitable to characterize these parameters on forages.

Lastly, ensiled forages such as high moisture corn, high moisture ear corn, corn, sorghum or small-grain silages are characterized by higher rumen starch degradability values than their grain counterparts, being these crops harvested at an early stage of maturity (Ferraretto and Shaver, 2012; Giuberti *et al.*, 2015; Gallo *et al.*, 2014). As for NDF and CP, the amount of rumen degraded starch varies markedly both between and within forages types. In order to obtain information about the entity of rumen starch degradability of a given material specific in vitro rumen based methods could be adopted, even if they are characterized by a very poor intra- or inter-lab accuracies (Gallo *et al.*, 2016b; Chai *et al.*, 2004). The development of new methods based on the exclusive use of commercial enzymes is one of the major activities that is currently being addressed by our research group.

Table 1. Principal chemical and biological parameters of different hays and silages

Parameters	u.m.	Alfalfa hays	Grass hays	Corn silages	Small-grain silages	Sorghum silages	High moisture corn
Fiber evaluations							
NDF	% DM	49.4± 7.4	62.5± 5.3	45.3± 4.6	63.0± 6.2	67.7± 4.5	10.3± 2.7
12h dNDF	% DM	10.9± 3.3	14.7± 3.3	8.7± 2.9	12.0± 2.2	13.6± 3.3	
24h dNDF	% DM	19.3± 5.3	26.2± 3.5	19.8± 6.1	22.6± 4.2	25.1± 5.2	
48h dNDF	% DM	22.8± 5.3	34.6± 3.8	28.5± 5.0	33.2± 5.1	34.9± 5.3	
uNDF	% DM	27.1± 5.9	23.3± 4.7	12.1± 3.8	21.5± 3.8	19.3± 3.3	
Crude protein evaluations							
RUP	% CP	43.2± 6.8	34.3± 4.7	34.3± 4.3	31.2± 5.2	35.6± 3.2	33.2± 4.5
Intestinal RUP digestibility	% RUP	42.6± 10.1	44.3± 7.8	55.2± 6.4	46.3± 3.5	47.8± 3.4	58.4± 17.7
Starch evaluations							
7h IVSD	% starch	% starch	-	-	72.3± 8.9	-	-
uStarch	% starch	% starch			<1-2%	-	-

On regards of the developed forage energy index (figure 2), it is based on only 2 chemical parameters for hays (ash and NDF) or 3 chemical parameters for silages (ash, NDF and starch) plus a common to all forages biological parameter, being uNDF (Gallo *et al.*, 2013). In particular, uNDF resulted as the most useful biological parameter to obtain an energy evaluation of different forage types and it was included in the index calculation. Consequently, this index uses a unique equation common to all forages and requires a limited number of inputs if compared to other approaches used in the major animal nutritional models. The forage energy index allows to obtain a reliable evaluation of the energy content of forages, thus permitting to rank poor- or high-quality forages within the same feed category.

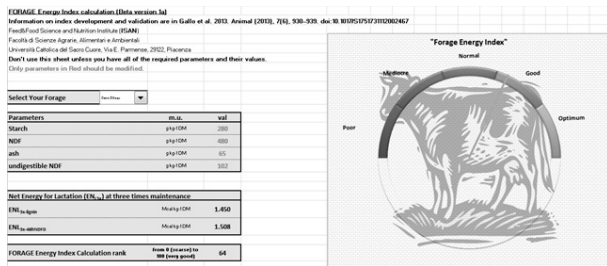


Figure 2. Example of Forage Energy Index calculation tool. The excel file could be downloaded at https://www.researchgate.net/publication/280312456_FORAGE_Energy_Index or by sending a request to the author.

Fermentative quality index of corn silages

The assessment of the fermentative quality of a silage is an important aspect in order to check if the ensiling process has been correctly done. This because the ensiling procedure is not standardized among dairy farms and different procedures to ensile and store silages are usually adopted. As extensively reviewed by Muck (Muck, 1988), an inappropriate silo management, including but not limited to inadequate dry matter (DM) content of crop at harvest, slow silo filling, imperfect mass sealing, poor mass compression, delay in mass pH drop, air penetration in ensiled mass or inappropriate unloading equipment and techniques, could compromise the different ensiling phases thus exposing silage to risk of air penetration (Bernardes and do Rêgo, 2014; Borreani *et al.*, 2018; Muck, 1988). In particular, aerobic deterioration could cause nutrient and DM losses, heat damage of nutrients, proteolysis, proliferation of undesirable microorganisms, such as mycotoxigenic fungi, and production of related toxins (Gallo *et al.*, 2015c). Furthermore, the negative effects due to aerobic activity could be more serious in specific areas of silage, especially in the lateral and apical parts, which are generally packed and sealed with difficulty (Weiss *et al.*, 2016; Borreani and Tabacco, 2010; Gallo *et al.*, 2015a). As a matter of fact, other than variations in chemical composition and nutrient digestibility of silages, changes in fermentation traits of silages such as pH or lactic acid, volatile fatty acids (VFA), ammonia nitrogen (NH3-N) and ethanol contents may affect voluntary

silage DM intake (DMI), palatability and nutrient utilization within the gastrointestinal tract of animals and consequently milk yield and milk flavor. Usually all these determinations are mutually used to obtain an overview of conditions affecting the silage making process or the feed-out face management of the ensiled crop, providing information about the rate and extent of either favorable or adverse fermentations occurring during the different ensiling stages. Accordingly, fermentative quality indexes, such as the Flieg–Zimmer's, Vanbelle and Bertin's, DLG scores (Flieg, 1938; Vanbelle and Bertin, 1985; Dlg-schlüssel and Gärqualität, 2006) have been proposed to rank between well and poorly preserved forages (figure 3). However, some assumptions related to these index computations are still debated, being well known that these indexes may contribute to obtain ambiguous results since, frequently, poorly fermented corn silages can be ranked as good to optimum (Gallo *et al.*, 2015a).

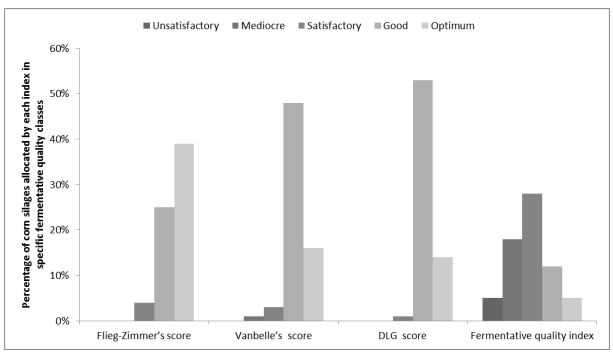
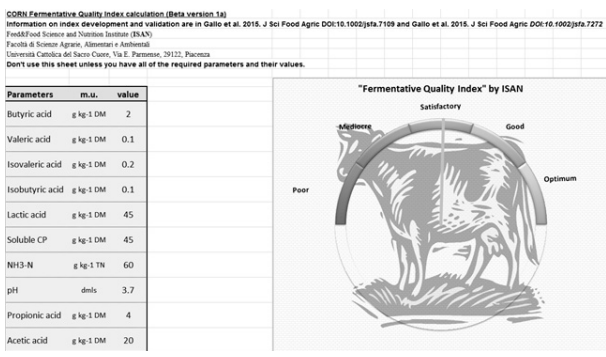


Figure 3. Percentage of corn silages allocated by different indexes in specific fermentative quality classes.

On the contrary, the use of new analytical techniques, such as high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography (GC) and near-infrared (NIR) spectroscopy, as well as new insights into the definition of the fermentation quality of ensiled corn silages provided the opportunity to revise these old-dated indexes, thus contributing to the development by our research group of a new one, called fermentative quality index (FQI, (Gallo *et al.*, 2015b)). The FQI requires the quantification of 10 parameters, more than those used to compute Flieg–Zimmer's, Vanbelle's or DLG scores. Particularly, parameters needed to classify the fermentative quality of corn silage were related to fermentative traits (i.e. pH, NH3-N, lactic, propionic, acetic, butyric, valeric, isovaleric and isobutyric acids) and soluble CP quantification. The use of a higher number of parameters to compute the FQI calculation should guarantee a more accurate prediction of the real fermentative quality of corn silages and it should be useful to better discriminate between poor- and well-fermented corn silages, as reported on figure 4.


CORN Fermentative Quality Index calculation (Beta version 1a)
Information on index development and validation are in Gallo et al. 2015. J Sci Food Agric DOI:10.1002/jsfa.7109 and Gallo et al. 2015. J Sci Food Agric DOI:10.1002/jsfa.7272
Feed&Food Science and Nutrition Institute (ISAN)
Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali
Università Cattolica del Sacro Cuore, Via E. Parmense, 29122, Piacenza
Don't use this sheet unless you have all of the required parameters and their values.

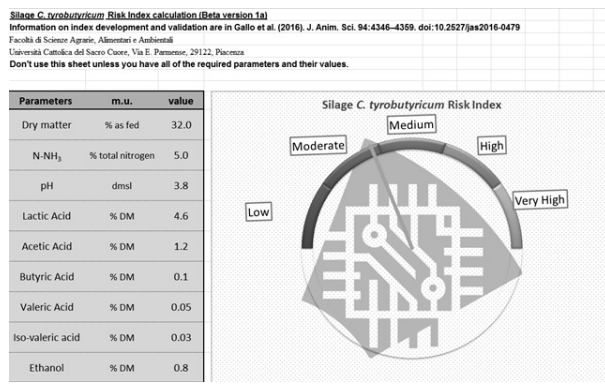
Parameters	m.u.	value
Butyric acid	g kg-1 DM	2
Valeric acid	g kg-1 DM	0.1
Isovaleric acid	g kg-1 DM	0.2
Isobutyric acid	g kg-1 DM	0.1
Lactic acid	g kg-1 DM	45
Soluble CP	g kg-1 DM	45
NH3-N	g kg-1 TN	60
pH	dmls	3.7
Propionic acid	g kg-1 DM	4
Acetic acid	g kg-1 DM	20

Figure 4. Example of Fermentative Quality Index calculation tool. The excel file could be downloaded at https://www.researchgate.net/publication/277901600_CORN_Fermentative_Quality_Index or by sending a request to the author.

Clostridia microbiology risk of corn silages

Butyric clostridia are often associated with the late-blowing defect and butyric acid fermentation in hard cheese production (Bassi *et al.*, 2013; Spoelstra, 1983). Among clostridia, Clostridium tyrobutyricum is considered the main responsible for this kind of food spoilage.

Vissers *et al.* (Vissers *et al.*, 2006) developed a simulation model to identify the main farm factors related to butyric acid bacteria concentrations in farm tank milk. As a result of the simulation model the microbial contamination level of silage appeared to be the most important factor, suggesting that butyric acid bacteria can find in this type of stored forage the best conditions for growth and development. Particularly, silages which are not correctly managed can result in greater air penetration in the mass, thus exposing silages to the contamination of different undesirable microorganisms. The mechanism behind this proliferation has not been yet clearly defined, but it can be presumed that the aerobic yeast activity in an area characterized by poor silage conservation may induce the return to anaerobic conditions that stimulate C. tyrobutirricum growth. To obtain a real risk evaluation of corn silage contamination by C. tyrobutyricum, an index has been developed by using specific corn silage traits related to ensiling, chemical, biological, fermentative, or microbiological traits as important factors in explaining C. tyrobutyricum presence in corn silages (Gallo *et al.*, 2016a). To predict the values of C. tyrobutyricum contamination into corn silage, 9 predictors were used (Figure 5). To improve accuracy of prediction, an extended version of this index could be calculated by using 15 predictors, including the main ensiling characteristics (bunker type, presence of lateral plastic film, and mass density), DM, some of the measured fermentative traits, and yeast and mold counts.


Silage *C. tyrobutyricum* Risk Index calculation (Beta version 1a)
Information on index development and validation are in Gallo et al. (2016). J. Anim. Sci. 94:4346–4359. doi:10.2527/jas2016-0479
Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali
Università Cattolica del Sacro Cuore, Via E. Parmense, 29122, Piacenza
Don't use this sheet unless you have all of the required parameters and their values.

Parameters	m.u.	value
Dry matter	% as fed	32.0
N-NH_3	% total nitrogen	5.0
pH	dmsl	3.8
Lactic Acid	% DM	4.6
Acetic Acid	% DM	1.2
Butyric Acid	% DM	0.1
Valeric Acid	% DM	0.05
Iso-valeric acid	% DM	0.03
Ethanol	% DM	0.8

Figure 5. Example of Silage *C. tyrobutyricum* Risk calculation tool. The excel file could be downloaded at https://www.researchgate.net/publication/323689256_Silage_Cl_tyrobutyricum_Risk_Index or by sending a request to the author.

Mycotoxin risk index of corn silages

Mycotoxins are defined as low molecular weight molecules produced by fungi that elicit a toxic response through a natural route of exposure both in humans and animals. They are often very stable molecules, and all are secondary metabolites of molds belonging to several genera, in particular Aspergillus, Fusarium, and Penicillium spp. (Placinta *et al.*, 1999). Furthermore, other genera such as Alternaria, Chaetomium,

Cladosporium, Claviceps, Diplodia, Myrothecium, Monascus, Phoma, Phomopsis, Pithomyces, Trichoderma and Stachybotrys include mycotoxigenic species (Cole and Cox, 1981). Generally, the term mycotoxicosis refers to the syndromes resulting from ingestion, skin contact or inhalation of these fungal metabolites. When livestock ingest one or more mycotoxins the effect on health could be acute, meaning evident signs of disease are present or even causing death. Such effects cause severe economic losses through clinically ambiguous changes in animal growth, feed intake reduction or feed refusal, alteration in nutrient absorption and metabolism, effects on the endocrine system as well as suppression of the immune system (Fink-Gremmels, 2008). Ruminants are less susceptible to mycotoxins than monogastrics because of the rumen microbiota may be effective in the degradation, deactivation and binding of these toxic molecules vehicled by feed particles. However, ruminant diets include starch (mainly cereals) and protein feeds, their by-products as well as grazed forage, hay or grass, grass/legume, whole-crop forage maize, small grain and sorghum silages, which increase the risk of mycotoxin exposure compared to swine and poultry that have less varied diets (Gallo *et al.*, 2015c).

Some recent evidence suggests the greatest exposure to some regulated mycotoxins in cows could be related to forage contamination, even if this aspect remains poorly investigated (Cheli *et al.*, 2013; Mostrom and Jacobsen, 2011). Particularly, published articles concerning the presence of mycotoxins in hay and silages are very limited compared to those analyzing the problem of mycotoxin contaminations in cereals. Furthermore, many other secondary metabolites different from regulated mycotoxins could be detected in forages, even if knowledge of their occurrence is currently limited.

The three most important toxigenic genera occurring at pre-harvest are Aspergillus, Fusarium and perhaps Alternaria spp. The occurrence of these fungi in the field is related to several factors, including agricultural practices and weather conditions. During ensiling most fungi can be eliminated although their produced mycotoxins remain in the crop. However, there are other species, such as Aspergillus fumigatus, Penicillium roqueforti, P. paneum, F. oxysporum and Monascus ruber capable of tolerating both high levels of organic acids and carbon dioxide in addition to low availability of oxygen (Rasmussen *et al.*, 2011; Fink-Gremmels and Diaz, 2005). Particularly, the presence of oxygen in some parts of the silage during storage or oxygen penetration during feed-out and aerobic spoilage phases could allow mold growth and mycotoxin production. In high quality silage, lactic acid bacteria are effective in hindering any mold growth, but just a small raise in the oxygen concentration could provide the right growth conditions for fungi such as P. roqueforti and P. paneum. Indeed, if most of acetic and lactic acids as well as carbon dioxide evaporate, and more oxygen is present, nearly all cereal-associated filamentous fungi may grow. Considerable variability in the mycotoxin occurrences and concentration levels has been reported in forages and this could be probably due to a multitude of environment-related (i.e., meteorological conditions, agronomical practices, ensiling procedures, management of forage, types of forage, etc.) or lab-related (sampling procedures, storage and preparation of samples, adopted analytical methods, etc.) factors.

However, some silage traits could be useful to obtain information about the risk of mycotoxin contamination in silages. With this specific aim a mycotoxin risk index for corn silages has been developed based on fermentative traits (dry matter, pH, Lactic Acid, Acetic Acid, Propionic Acid, Butyric Acid, Ethanol) and ensiling characteristics (type of bunker silos, presence of lateral plastic film, type of material placed on the top of plastic film) correlated to contamination of specific mycotoxins of silages, such as those produced by Fusarium spp (DON, Fumonisins, Zearalenone, etc.) or Penicillium spp. (Mycophenolic acid, Roquefortine C, PR toxin, etc). Here users should be advised that the mycotoxin risk index may inaccurately predict the real risk of corn silage mycotoxin contamination, being its calibration based on few data input to predict a such complex biological process (figure 6). So, this index should be used to obtain suggestion about risk of corn silage mycotoxin contamination but it is highly recommended to support results from the index by lab analysis.

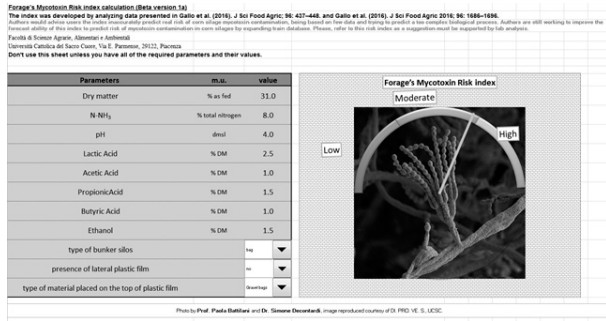


Figure 6. Example of Forage's Mycotoxin Risk index calculation tool. The excel file could be downloaded at https://www.researchgate.net/publication/323689155_Silage_Mycotoxin_Risk_Index or by sending a request to the author.

REFERENCE LIST

- Van Amburgh, M.E., E.A. Collao-Saenz, R.J. Higgs, D.A. Ross, E.B. Recktenwald, E. Raffrenato, L.E. Chase, T.R. Overton, J.K. Mills, and A. Foskolos. 2015. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System: Updates to the model and evaluation of version 6.5. *J. Dairy Sci.* 98:6361–6380. doi:10.3168/jds.2015-9378.
- Bassi, D., C. Fontana, S. Zucchelli, S. Gazzola, and P.S. Cocconcelli. 2013. TaqMan real time-quantitative PCR targeting the phosphotransacetylase gene for Clostridium tyrobutyricum quantification in animal feed, faeces, milk and cheese. *Int. Dairy J.* 33:75–82. doi:10.1016/j.idairyj.2013.06.008.
- Bernardes, T.F., and A.C. do Rêgo. 2014. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 97:1852–61. doi:10.3168/jds.2013-7181.
- Borreani, G., and E. Tabacco. 2010. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *J. Dairy Sci.* 93:2620–2629. doi:10.3168/jds.2009-2919.
- Borreani, G., E. Tabacco, R.J. Schmidt, B.J. Holmes, and R.E. Muck. 2018. Silage review : Factors affecting dry matter and quality losses in silages 1. *J. Dairy Sci.* 101:3952–3979. doi:10.3168/jds.2017-13837.
- Boucher, S.E., S. Calsamiglia, C.M. Parsons, H.H. Stein, M.D. Stern, P.S. Erickson, P.L. Utterback, and C.G. Schwab. 2009. Intestinal digestibility of amino acids in rumen-undegraded protein estimated using a precision-fed cecectomized rooster bioassay: II. Distillers dried grains

with solubles and fish meal. *J. Dairy Sci.* 92:6056–67. doi:10.3168/jds.2008-1885.

- Bozic, M., J. Newton, C.S. Thraen, and B.W. Gould. 2012. Mean-reversion in income over feed cost margins: Evidence and implications for managing margin risk by US dairy producers. *J. Dairy Sci.* 95:7417–7428. doi:10.3168/jds.2012-5818.
- Broderick, G.A. 1995. Desirable characteristics of forage legume for improving protein utilisation in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73:2760–2773.
- Buza, M.H., L.A. Holden, R.A. White, and V.A. Ishler. 2014. Evaluating the effect of ration composition on income over feed cost and milk yield. *J. Dairy Sci.* 97:3073–3080. doi:http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7622.
- Chai, W.Z., a. H. Van Gelder, and J.W. Cone. 2004. Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114:195–204. doi:10.1016/j.anifeedsci.2003.11.014.
- Cheli, F., A. Campagnoli, and V. Dell'Orto. 2013. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 183:1–16. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.01.013.
- Cole, R.J., and R.H. Cox. 1981. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. Academic Press, editor. Elsevier. ix-x pp.
- Cone, J.W., A.H. Van Gelder, A.A. Mathijssen-Kamman, and V.A. Hindle. 2006. Post-ruminal digestibility of crude protein from grass and grass silages in cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128:42–52. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.09.012.
- Cotanch, K.W., R.J. Grant, M.E. Van Amburgh, A. Zontini, M. Fustini, A. Palmonari, and A. Formigoni. 2014. Applications of uNDF in Ration Modeling and Formulation.
- Dlg-schlüssel, T.B., and B. Der Gärqualität. 2006. Grobfutterbewertung.
- Du, S., M. Xu, and J. Yao. 2016. Relationship between fibre degradation kinetics and chemical composition of forages and by-products in ruminants. *J. Appl. Anim. Res.* 44:189–193. doi:10.1080/09712119.2015.1031767.
- Edmunds, B., H. Spiekers, K.H. Südekum, H. Nussbaum, F.J. Schwarz, and R. Bennett. 2014. Effect of extent and rate of wilting on nitrogen components of grass silage. *Grass Forage Sci.* 69:140–152. doi:10.1111/gfs.12013.
- Edmunds, B., K.-H. Südekum, H. Spiekers, and F.J. Schwarz. 2012. Estimating ruminal crude protein degradation of forages using in situ and in vitro techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 175:95–105. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.04.003.
- Ferraretto, L.F., and R.D. Shaver. 2012. Meta-analysis : Effect of corn silage harvest practices on intake , digestion , and milk production by dairy cows. *Prof. Anim. Sci.* 28:141–149.
- Fink-Gremmels, J. 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Addit. Contam. Part A. Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 25:172–180. doi:10.1080/02652030701823142.
- Fink-Gremmels, J., and D.E. Diaz. 2005. Mycotoxins in forages. *In* The mycotoxin blue book. D.E. Diaz, editor. Nottingham University Press. 249–268.
- Flieg, O. 1938. A key for the evaluation of silage samples. *Futterbau und Giirfutterbereitung.* 1:112–128.
- Gallo, A., D. Bassi, R. Esposito, M. Moschini, P.S. Cocconcelli, and F. Masoero. 2016a. Relationships among ensiling, nutritional, fermentative, microbiological traits and clostridium tyrobutyricum contamination in corn silages addressed with partial least squares regression. *J. Anim. Sci.* 94:4346–4359. doi:10.2527/jas2016-0479.
- Gallo, A., T. Bertuzzi, G. Giuberti, M. Moschini, S. Bruschi, C. Cerioli, and F. Masoero. 2015a. New assessment based on the use of principal factor analysis to investigate corn silage quality from nutritional traits, fermentation end products and mycotoxins. *J. Sci. Food Agric.* [Epub ahead of print] DOI:10.1002/jsfa.7109. doi:10.1002/jsfa.7109.
- Gallo, A., P. Fortunati, S. Bruschi, G. Giuberti, and F. Masoero. 2018. Use of central composite design to optimize working conditions of Streptomyces griseus enzymatic method in estimating in vitro rumen undegraded crude protein of feedstuffs. *J. Agric. Sci.* 156:100–109. doi:10.1017/S0021859617000910.
- Gallo, A., G. Giuberti, S. Bruschi, P. Fortunati, and F. Masoero. 2015b. Use of principal factor analysis to generate a corn silage fermentative quality index to rank well- or poorly-preserved forages. *J. Sci. Food Agric.* [Epub ahead of print] DOI:10.1002/jsfa.7272. doi:10.1002/jsfa.7272.
- Gallo, A., G. Giuberti, S. Bruschi, P. Fortunati, and F. Masoero. 2017. Technical note: Relationship between in situ NDF degradability and enzymatic NDF hydrolysis in forages, nonforage fibrous feeds, and crop residues. *J. Anim. Sci.* 95. doi:10.2527/jas.2017.1630.
- Gallo, A., G. Giuberti, J. Frisvad, T. Bertuzzi, and K. Nielsen. 2015c. Review on Mycotoxin Issues in Ruminants: Occurrence in Forages, Effects of Mycotoxin Ingestion on Health Status and Animal Performance and Practical Strategies to Counteract Their Negative Effects. *Toxins (Basel).* 7:3057–3111. doi:10.3390/toxins7083057.
- Gallo, A., G. Giuberti, and F. Masoero. 2016b. Gas production and starch degradability of corn and barley meals differing in mean particle size. *J. Dairy Sci.* 99:4347–4359. doi:10.3168/jds.2015-10779.
- Gallo, A., G. Giuberti, F. Masoero, A. Palmonari, L. Fiorentini, and M. Moschini. 2014. Response on yield and nutritive value of two commercial maize hybrids as a consequence of a water irrigation reduction. *Ital. J. Anim. Sci.* 13. doi:10.4081/ijas.2014.3341.
- Gallo, A., M. Moschini, C. Cerioli, and F. Masoero. 2013. Use of principal component analysis to classify forages and predict their calculated energy content. *Animal*. 7:930–939. doi:10.1017/S1751731112002467.
- Giuberti, G., A. Gallo, M. Moschini, and F. Masoero. 2015. New insight into the role of resistant starch in pig nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 201:1–13. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.01.004.
- Givens, D.I., E. Owen, H.M. Omed, and R.F.E. Axford. 2000. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.
- Higgs, R.J., L.E. Chase, D.A. Ross, and M.E. Van Amburgh. 2015. Updating the Cornell Net Carbohydrate and Protein System feed library and analyzing model sensitivity to feed inputs. *J. Dairy Sci.* 98:6340–6360. doi:10.3168/jds.2015-9379.

- Huhtanen, P., and a N. Hristov. 2009. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3222–3232. doi:10.3168/jds.2008-1352.
- Krämer, M., M.R. Weisbjerg, P. Lund, C.S. Jensen, and M.G. Pedersen. 2012. Estimation of indigestible NDF in forages and concentrates from cell wall composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 177:40–51. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.07.027.
- Mostrom, M.S., and B.J. Jacobsen. 2011. Ruminant mycotoxicosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 27:315–344. doi:10.1016/j.cvfa.2011.02.007.
- Muck, R.E. 1988. Factors Influencing Silage Quality and Their Implications for Management. *J. Dairy Sci.* 71:2992–3002. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79897-5.
- Palmonari, A., A. Gallo, and M. Fustini. 2016. Estimation of the indigestible fiber in different forage types. 248–254. doi:10.2527/jas2015-9649.
- Paulson J. 2007. Forage quality affects profitability.
- Paz, H.A., T.J. Klopfenstein, D. Hostetler, S.C. Fernando, E. Castillo-Lopez, and P.J. Kononoff. 2014. Ruminal degradation and intestinal digestibility of protein and amino acids in high-protein feedstuffs commonly used in dairy diets. *J. Dairy Sci.* 97:6485–98. doi:10.3168/jds.2014-8108.
- Placinta, C.M., J.P.F. D'Mello, and A.M.C. MacDonald. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:21–37. doi:10.1016/S0377-8401(98)00278-8.
- Rasmussen, R.R., P.H. Rasmussen, T.O. Larsen, T.T. Bladt, and M.L. Binderup. 2011. In vitro cytotoxicity of fungi spoiling maize silage. *Food Chem. Toxicol.* 49:31–44. doi:10.1016/j.fct.2010.09.007.
- Sauvant, D., and P. Nozière. 2015. Quantification of the main digestive processes in ruminants: the equations involved in the renewed energy and protein feed evaluation systems. *Animal*. 1–16. doi:10.1017/S1751731115002670.
- Schwab, E.C., R.D. Shaver, J.G. Lauer, and J.G. Coors. 2003. Estimating silage energy value and milk yield to rank corn hybrids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109:1–18. doi:10.1016/S0377-8401(03)00210-4.
- Spanghero, M., G. Magni, E. Boselli, M. Piombino, F. Mason, and G. Cozzi. 2017. Prediction of metabolisable energy content of commercial total mixed rations (TMR) for lactating dairy cows based on gas production measured into two TMR fractions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 226:65–70. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.01.010.
- Spoelstra, S.F. 1983. Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 34:145–152. doi:10.1002/jsfa.2740340206.
- Stern, M.D., A. Bach, S. Calsamiglia, M.D. Stern, A. Bach, and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants . The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : Alternative Techniques for Measuring Nutrient Digestion in Rumi. *J. Anim. Sci.* 75:2256–2276.
- Stokes, S. 2002. The Importance of Forage Quality for Milk Production and Health. 14:207–215.
- Valvekar, M., V.E. Cabrera, and B.W. Gould. 2010. Identifying cost-minimizing strategies for guaranteeing target dairy income over feed cost via use of the Livestock Gross Margin dairy insurance program. *J. Dairy Sci.* 93:3350–3357. doi:10.3168/jds.2009-2815.
- Vanbelle, M., and G. Bertin. 1985. L'ensilage, aspects biologiques nouveaux.
- Vissers, M.M.M., F. Driehuis, M.C. Te Giffel, P. De Jong, and J.M.G. Lankveld. 2006. Improving Farm Management by Modeling the Contamination of Farm Tank Milk with Butyric Acid Bacteria. *J. Dairy Sci.* 89:850–858. doi:http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72148-8.
- Weiss, K., B. Kroschewski, and H. Auerbach. 2016. Effects of air exposure, temperature and additives on fermentation characteristics, yeast count, aerobic stability and volatile organic compounds in corn silage. *J. Dairy Sci.* 99:8053–8069. doi:10.3168/jds.2015-10323.
- White, R.R., Y. Roman-Garcia, J.L. Firkins, M.J. VandeHaar, L.E. Armentano, W.P. Weiss, T. McGill, R. Garnett, and M.D. Hanigan. 2017. Evaluation of the National Research Council (2001) dairy model and derivation of new prediction equations. 2. Digestibility of fiber, fat, protein, and nonfiber carbohydrate. *J. Dairy Sci.* 86:2178–2192. doi:10.3168/jds.2015-10800.
- Zontini, A., A. Foskolos, D.A. Ross, J. Metcalf, P.H. Doane, and M.E. Van Amburgh. 2015. Research Update: Formulating Diets for Lactating Cattle Using Multiple Pools of NDF Digestibility. *In* Cornell procediings. 189–196.

LA DISPONIBILIDAD DE ALMIDÓN, SU MEDICIÓN E IMPLICACIONES PARA LA FORMULACIÓN DE RACIONES

M. S. Allen

Department of Animal Science, Michigan State University

RESUMEN

La concentración y la digestibilidad ruminal del almidón en las raciones para vacas en lactación tienen importantes efectos sobre la productividad. El almidón es más fácil de digerir y llena menos que la fibra de forraje y proporciona más precursores de glucosa que la fibra procedente de cualquier fuente. La fermentabilidad ruminal del almidón se ve afectada por el tipo de grano y de endospermo, el método de elaboración y conservación, y la dieta y factores de los animales, y afecta a la producción de los ácidos de fermentación y la proteína microbiana en el rumen. Una fermentabilidad ruminal excesiva puede disminuir la digestibilidad de la fibra, la eficiencia de la producción de la proteína microbiana y alterar la biohidrogenación en el rumen, disminuyendo así la síntesis de la grasa de la leche y aumentando la partición de la energía hacia la condición corporal a expensas de la leche.

La concentración y la fermentabilidad ruminal del almidón afectan el consumo de alimento y la partición de la energía en las vacas de manera diferente a medida que pasan por el periodo de la lactancia. Las vacas de alta producción a principios o mediados de la lactación prosperan con raciones con altos niveles de almidón altamente fermentable mientras que la concentración y fermentabilidad del almidón debe disminuir a medida que la lactancia progresa para mantener la cantidad de la materia grasa de la leche y evitar una condición corporal excesiva. Las fuentes de almidón altamente fermentable deben limitarse en las raciones durante las dos primeras semanas después del parto para evitar la depresión en el consumo de alimento, y disminuir el riesgo de acidosis ruminal y abomaso desplazado. Es necesario agrupar a las vacas por estado fisiológico (fresco, a principios y mediados, mantenimiento) para formular dietas para que el almidón pueda optimizar la salud y la producción.

INTRODUCCIÓN

El almidón es un componente de la alimentación que es altamente digestible y energéticamente denso y que normalmente oscila entre menos del 20% hasta más del 28% de las raciones dadas a las vacas lecheras. El forraje se suplementa con granos de cereal para aumentar su densidad energética, proporcionar precursores de glucosa, y disminuir los efectos de la sensación de estar lleno de las raciones. El almidón está compuesto de polímeros de glucosa (amilosa y amilopectina) con uniones que son fácilmente divididas por enzimas producidas en los mamíferos. Sin embargo, el almidón está empaquetado en unos gránulos que están incrustados en una matriz proteica en el endospermo de la semilla, que varía en solubilidad y en su resistencia a la digestión (Kotarski *et al.*, 1992). Estas diferencias en el tipo de endospermo tienen grandes efectos sobre la fermentabilidad ruminal del almidón, la cual varía ampliamente; la fermentabilidad ruminal del almidón de diferentes cereales oscila entre menos del 30% hasta más del 90% (Nocek y Tamminga, 1991; Firkins *et al.*, 2001). La alteración de la concentración y la fermentabilidad ruminal del almidón en las raciones afecta la digestibilidad del almidón (Ngonyamo-Majee *et al.*, 2008), el pH ruminal y la digestibilidad de la fibra (Firkins *et al.*, 2001), y el tipo, la cantidad y la absorción temporal de los combustibles (por ejemplo, acetato, propionato, lactato, glucosa) disponibles para la vaca (Allen, 2000). Esto tiene grandes efectos sobre el rendimiento lactacional por afectar la ingesta y la partición de la energía, así como de la proteína absorbida (Allen *et al.*, 2009). Además, los efectos sobre el rendimiento de los animales dependen del estado fisiológico de las vacas, el cual varía a lo largo del periodo de la lactancia (Allen *et al.*, 2005). Por lo tanto, la concentración óptima y la fermentabilidad ruminal del almidón en las raciones de las vacas lecheras varían a lo largo de la lactancia. El objetivo de este trabajo es discutir qué determina el lugar de la digestión y la digestibilidad del tracto global del almidón, los efectos de la concentración y la fermentabilidad ruminal del almidón en el rendimiento del animal, y unas consideraciones sobre el almidón para formular dietas para vacas lecheras.

LA FERMENTABILIDAD DEL ALMIDÓN

La fermentabilidad ruminal del almidón varía mucho y se ve afectada por el tipo del grano, su vitrosidad, el procesamiento (por ejemplo, trituración, laminación, descamación por vapor), el método de conservación (seco o ensilado), la composición de la ración, y las características de los animales. El almidón del trigo, cebada y avena se fermenta generalmente con mayor facilidad que el almidón del maíz, y el almidón del sorgo es la que presenta mayor resistencia a la fermentación en el rumen y a la digestión por el animal (Huntington, 1997). Estas diferencias son, en gran medida debido a los diferentes tipos de endospermo, más que a las diferencias en la composición del almidón (amilosa vs. amilopectina) per se. El endospermo harinoso contiene proteínas que son fácilmente solubilizadas, permitiendo un mayor acceso de las enzimas de los gránulos del almidón mientras que la endosperma vítreo contiene proteínas prolaminas que son insolubles y resistentes a la digestión, disminuyendo el acceso de las enzimas de los gránulos del almidón (Hoffman y Shaver, 2010). Las fuentes del almidón varían en la cantidad y la proporción de los dos tipos de endosperma y existe una gran variación de vitrosidad del endosperma (porcentaje del endosperma total que es vítreo) entre distintas variedades de ciertos tipos de granos. La vitrosidad del endosperma del maíz seco cosechado varía del 0% hasta más del 75% y el maíz con un endosperma más vítreo es más resistente tanto a la reducción del tamaño de las partículas mediante la molienda como a la digestión (Hoffman *et al.*, 2010) que el maíz con un endosperma más harinoso. La vitrosidad aumenta con el aumento de la madurez a la hora de la cosecha (Phillipeau y Michalet-Doreau, 1997), por lo tanto, las diferencias entre los híbridos del maíz son mayores cuando se secan en el campo. Como el maíz en silo es cosechado antes que el maíz con un alto contenido de humedad, el grano tendrá menos endosperma vítreo y más humedad cuando se recolecta del mismo campo como maíz integral en vez de maíz con alto contenido de humedad. Sin embargo, puede haber grandes diferencias de vitrosidad dentro del maíz ensilado cosechado con un porcentaje de materia seca entre el 30% y el 40% y

dentro del maíz con alto contenido de humedad cosechado con un porcentaje de materia seca de entre el 60% y el 75% (40 y 25% de humedad) en el mismo campo.

Cuando los granos son ensilados, la fermentabilidad ruminal del almidón puede verse muy afectado por la concentración de humedad del grano y el tiempo de almacenamiento. Esto se debe a que el ensilado solubiliza las proteínas del endospermo a lo largo del tiempo, aumentando la fermentabilidad de almidón. El aumento de la solubilidad de la proteína y de la fermentabilidad del almidón a lo largo del tiempo es mayor para los granos con mayor concentración de humedad (Figura 1; Allen *et al.*, 2003). Por lo tanto, el cambio es mayor en el caso del maíz ensilado con mayor humedad y menor en el caso del maíz húmedo más seco. Este cambio es mayor durante los primeros meses de ensilaje, y debe preverse y tenerse en cuenta a la hora de formular las raciones. Debido a esto, es recomendable esperar varios meses después del ensilaje, antes de utilizar el maíz ensilado como alimento (Allen, 1998). No obstante, los cambios continúan durante meses a un ritmo más lento y el maíz ensilado y el maíz de alta humedad almacenados durante largos periodos de tiempo (uno o dos años o más) puede ser difícil para dar como alimento en altas concentraciones porque se fermenta tan fácilmente.

El procesamiento aumenta la velocidad de la digestión del almidón y los efectos son mayores en el caso de los granos con mayor proporción de endosperma vítreo como el sorgo y el maíz (Huntington, 1997). El acceso de las enzimas a los gránulos del almidón se incrementa con la descamación por vapor, lo que provoca la inflamación y la rotura de la estructura del núcleo, y con la reducción del tamaño de las partículas por laminación o moliendo de los granos enteros, o con el procesamiento del ensilado para aplastar los granos, lo que aumenta considerablemente la superficie de contacto. Los granos secos se pueden moler finamente, reduciendo enormemente los efectos de la vitrosidad del endosperma en la fermentabilidad ruminal. El procesado (rolling) del maíz ensilado no es tan efectivo para aumentar el área de superficie como la molienda fina; el procesado puede reducir, pero no eliminar, las diferencias en la digestibilidad de las fuentes con distintas niveles de vitrosidad.

MEDICIÓN DE LA CONCENTRACIÓN Y LA FERMENTABILIDAD DEL ALMIDÓN

La concentración de almidón es relativamente constante dentro de los granos de diferentes tipos de cereal, pero varía mucho en el forraje que contiene almidón como el maíz ensilado y ensilajes de grano pequeño. Por lo tanto, puede que los valores publicados de la concentración de almidón sean aceptables para los granos de cereal, pero se debe medir la concentración de almidón en los forrajes procedentes de las cosechas de grano. Por ejemplo, la concentración de almidón en el maíz ensilado varía desde menos de 20 a más del 50% de material seca (DM) dependiendo de la concentración de grano, lo que, a su vez, depende de la genética, el medio ambiente y la madurez a la hora de la cosecha. La concentración de almidón en el maíz ensilado es inversamente proporcional a la concentración del NDF; la fracción de rastrojo fibroso de la planta se enriquece si los granos no llenan.

Uno no debe fiarse de la concentración de los carbohidratos sin fibra (NFC) en las dietas como medida de la concentración de almidón. La fracción de NFC se calcula restando los componentes medidos (NFC, CP, extracto de éter, ceniza) del total de la DM. Contiene otros carbohidratos como los azúcares y la pectina y ser subestimada en la medida en que esté presente nitrógeno no proteico. Mientras el almidón, los azucares y la pectina son generalmente muy fáciles de digerir, sus efectos en la población microbiana ruminal y en la energía disponible para el animal difieren enormemente. El almidón fermentado en el rumen aumenta la producción de propionato en el rumen (Sutton *et al.*, 2003) y el almidón que se escapa de la fermentación ruminal proporciona la glucosa que se absorbe o se metaboliza transformándose en lactato en el intestino delgado (Reynolds *et al.*, 2003). Los azúcares se fermentan casi por completo en el rumen y generalmente incrementan la producción de butirato (Oba, 2011). La mayoría de las cepas de bacterias del rumen que degradan la pectina producen ácido acético y ácido fórmico y relativamente poco ácido propiónico (Dehority, 1969). El ácido propiónico y el ácido láctico son precursores de la glucosa mientras que los ácidos fórmico, acético, y butirato no lo son. Además, el propionato puede disminuir el consumo de alimento en algunas condiciones (Allen, 2000) y el almidón, los azúcares, y la pectina tienen diferentes efectos sobre las poblaciones microbianas en el rumen que pueden afectar a la digestión de la fibra y la biohidrogenación en el rumen de ácidos grasos. Por lo tanto, la NFC no es un indicador útil del almidón a la hora de formular las raciones para vacas en lactación.

Tabla 1. Los efectos de la dieta en la tasa de paso (kp) del almidón desde el rumen[1].

Experimento	Tratamiento	kp, %/h	*P*-valor
Oba and Allen, 2000b	bm3 maíz ensilado	12,9	0,02
	control maíz ensilado	10,6	
	29% dieta NDF	14,5	<0,0001
	38% dieta NDF	9,0	
Oba and Allen, 2003a	maíz de alta humedad	15,4	0,07
	maíz seco molido	19,7	
Voelker and Allen, 2003b	maíz de alta humedad	15,9	0,01
	24% pulpa de remolacha	23,5	
Ying and Allen, 2005	maíz de alta humedad	7,1	<0.0001
	maíz seco molido	16,3	
	endosperma vítreo	16,0	<0.001
	endosperma harinoso	7,5	
Taylor and Allen, 2005	endosperma vítreo	21,2	0,10
	endosperma harinoso	16,2	
Allen *et al.*, 2008	endosperma vítreo	25,7	<0.001
	endosperma harinoso	16,0	

[1]Calculado dividiendo el flujo duodenal (g/h) por el tamaño del rumen (g) y multiplicando el resultado por 100.

Las diferencias relativas en la tasa de digestión del almidón puede determinarse por la digestión del almidón *in vitro* (IVSD) utilizando microbios del rumen. Esto puede hacerse incubando muestras durante un tiempo en el fluido del rumen y evaluando la tasa con la que el almidón desaparece o, de una manera menos costoso e igualmente informativo, evaluando la desaparición del almidón durante un periodo de tiempo (por ejemplo, 7 horas). Empezamos con un periodo de incubación de 7 horas hace más de 20 años cuando nuestro objetivo era predecir la digestibilidad ruminal del almidón en vivo porque pensábamos que era un tiempo de residencia media razonable

para el almidón en el rumen de las vacas en lactación. Sin embargo, posteriormente nos dimos cuenta que eso era un enfoque ingenuo porque la digestibilidad ruminal del almidón en vivo se ve muy afectada por la actividad enzimática del fluido del rumen y el tamaño de las partículas de almidón, y que el tiempo de residencia del almidón en el rumen es muy variable, no solamente entre vacas pero también en lo que se refiere a las fuentes de almidón (Tabla 1). Continuamos utilizando la IVSD a 7 horas porque pensamos que ofrece información útil sobre las tasas relativas de fermentación de las fuentes de almidón. Sin embargo, es muy importante saber que la IVSD de 7 horas es una medida relativa de la tasa de la digestión del almidón solamente. Hay que moler las muestras antes del análisis, lo que elimina una variabilidad importante en muchas de las comparaciones (por ejemplo, maíz ensilado procesado o no-procesado). Las comparaciones deben hacerse en la misma sesión in vitro (a la vez) porque la IVSD de las mismas fuentes varía mucho en diferentes sesiones. Esto es debido a que la actividad de las enzimas (amilasas y proteasas) del fluido ruminal es altamente variable de vaca en vaca, del tiempo relativo a la alimentación, y entre dietas consumidas. En nuestro laboratorio, el coeficiente de variación de la IVSD a 7 horas entre sesiones puede llegar hasta el 25% incluso después de intentar minimizar la variación tomando fluido del rumen de varias vacas alimentadas con una dieta específica a la misma hora del día. Esto es mucho más alto que el coeficiente de variación de la digestibilidad NDF in vitro a los 30 horas, que es del 3%.

Como la digestión del almidón queda inhibida por las proteínas insolubles en el endosperma, se ha medido la solubilidad de la proteína como un indicador de las diferencias relativas de la digestibilidad del almidón. Como en el caso del IVSD, establecer la solubilidad del almidón requiere la molienda de las muestras para eliminar la variación entre las fuentes. Como es una medida química en lugar de biológica, presenta una variabilidad menor entre sesiones que la IVSD. La precisión de la predicción de la digestibilidad del almidón basado en la solubilidad proteica viene limitado por la relación entre la solubilidad de la proteína y la tasa de digestibilidad del almidón además de un conocimiento limitado de la tasa de paso del almidón desde el rumen. Por lo tanto, como en el caso de la IVSD, la mediciones de la solubilidad proteica proporcional algo de información sobre la digestión del almidón pero no puede utilizarse para medir la digestibilidad de almidón ruminal con precisión.

Predicción mediante modelos.

Aunque la medición de la tasa de digestión de fracciones de alimento *in vitro* e *in situ* pueden proporcionar información pertinente sobre las diferencias relativas entre alimentos, se necesitan valores absolutos, no relativos, mediante modelos para predecir la digestibilidad ruminal. Por lo tanto, a pesar lo prometedor que parecen, los modelos de formulación de raciones que incluyen sub-modelos de rumen, como el CNCPS no predicen la digestibilidad de almidón ruminal con precisión, incluso si se utilizan las tasas de digestión *in vitro* del almidón como input (Allen, 2001). La exactitud y la precisión de la predicción de la digestibilidad ruminal del almidón fue muy pobre en varios modelos, incluyendo la CPM y AMTS en una reciente evaluación; la AMTS y CPM predijeron al alza la digestibilidad del almidón en el caso del maíz en más de 25 puntos porcentuales (~80% vs. 55%), llevando a los autores a concluir que las estimaciones del modelo no eran de utilidad (Patton *et al.*, 2012). Los factores primarios que limitan las determinaciones exactas de la tasa de digestión in vitro o in situ son 1) la incapacidad para imitar el aumento de superficie y el tamaño de las partículas por la ruminación, 2) la variación de la actividad enzimática y la relación entre las enzimas y el substrato en el rumen en el tiempo, y 3) una falta de entendimiento y de datos sobre las tasas de paso del almidón.

Las tasas de digestión del almidón determinadas *in vitro* son muy diferentes a las tasas reales de digestión porque las partículas de alimento que contienen almidón y que son consumidas por las vacas son de mayor tamaño de lo que se requiere para un análisis *in vitro* y porque la actividad enzimática del rumen varía mucho dependiendo de la dieta, el tiempo pasado desde que la última comida, y de la vaca. Es necesario moler los alimentos para obtener unas muestras uniformes para el análisis en el laboratorio, pero la molienda aumenta la superficie accesible a los microbios, lo cual aumenta la velocidad de la digestión comparado con alimentos intactos *in vivo*. Por otro lado, si no los mueles en absoluto dará una estimación a la baja del tiempo de digestión porque los alimentos son triturados con el tiempo antes de que salgan del rumen. Este es un problema sin solución porque la simulación de los efectos de la masticación en una incubación *in vitro* o *in vivo* es inviable.

La alta variabilidad de la IVSD en distintas sesiones nos llevó a evaluar el efecto del fluido ruminal antes y después de la alimentación sobre la IVSD-7h, que fue un 33% mayor después de comer que antes de comer (41.2 vs. 30.9%, $P < 0.01$; Fickett and Allen, 2002). La actividad enzimática relacionada con la fermentación del almidón también aumenta con dietas altas en almidón; encontramos que la tasa fraccional de la digestión del almidón determinada *in vivo* utilizando el método "pool and flux" era mayor en dietas con una concentración alta de almidón y con un NDF más bajo proveniente del forraje (Oba y Allen, 2003a) o de la pulpa de remolacha (Voelker y Allen, 2003b). Por lo tanto, al menos en el caso del almidón, la digestión es un proceso de segundo orden que depende tanto de la actividad enzimática y del substrato. Este es un problema de la utilización de datos actuales en la mayoría de los modelos existentes, en las cuales la digestión es modelada como un proceso de primer orden dependiente de las características de la alimentación solamente.

La tasa de paso del almidón se vio muy afectado por el tamaño de las partículas, el método de conservación, y el tipo de endosperma en el caso del maíz (Tabla 1; Ying y Allen, 2005; Allen *et al.*, 2008). De todos modos, hay pocos datos sobre la tasa de paso del almidón y cómo le afecta la dieta y el nivel de ingesta. Como la tasa de paso es tan importante como la velocidad de la digestión para determinar la digestibilidad ruminal del almidón, las predicciones exactas mediante modelos que utilizan la cinética de la digestión para predecir la digestibilidad del almidón no son posibles actualmente. Además, los modelos, como la CNCPS, que utilizan las tasas de digestión en el caso de fracciones de carbohidratos pero la tasa de paso para la alimentación completa producen mayores imprecisiones a la hora de determinar la digestión del almidón ruminal.

LA RESPUESTA DE PRODUCCION

Los efectos de la saciabilidad y la fermentabilidad de las raciones se ven afectados por la concentración y la fermentabilidad ruminal del almidón y pueden afectar la DMI, la partición de nutrientes, la producción de proteína microbiana, y la digestibilidad total del tracto. El aumento de la concentración de almidón en la ración ofrecida a las vacas en lactación de ~23 a ~34% (~24 a 16% forraje NDF, respectivamente) produjo efectos variables de DMI y FCM dependiendo de la producción de leche de vacas (rango en FCM: de ~50 a ~130 lb/d). Los

efectos, sobre la DMI, de la ración alta en almidón y baja en forraje NDF se incrementó linealmente con el aumento de la producción de leche de las vacas en toda la gama, mientras que la respuesta de FCM sólo aumentó en las vacas que excedían de ~90 lb/d de FCM (Voelker y Allen, 2003a; Figura 2). Los efectos sobre el DMI se debieron probablemente a que la dieta alta en almidón era menos saciante (16% forraje NDF) y el llenado del rumen es una mayor limitación a la ingesta de alimentos según aumenta el producción de leche (Allen, 1996), mientras que la respuesta relacionada con la FCM probablemente dependió de los efectos de la ración sobre la digestibilidad y la partición de la energía en las vacas.

El estado fisiológico de los animales determina los efectos de la digestibilidad del almidón sobre el DMI (Bradford y Allen, 2007) y la producción (Bradford y Allen, 2004). El maíz de alta humedad comparado con maíz seco molido tuvo unos efector contrarios en el rendimiento lechero de las vacas dependiendo del rendimiento lechero inicial, sin cambios en el grupo en general. El maíz de alta humedad aumentó la concentración de grasa láctea y el rendimiento de FCM en vacas que producían más de ~90 lb/día pero disminuyó en la vacas que producían menos de esa cantidad (Bradford y Allen, 2004). El efecto del tratamiento sobre el DMI no estaba relacionado con la producción de leche, sino que se vio afectado por la condición fisiológica de las vacas; la caída del DMI visto con el maíz de alta humedad comparado con el tratamiento con maíz seco estaba relacionado con la concentración de insulina en el plasma y la respuesta de la insulina a un aumento de la glucosa (Bradford y Allen, 2007). La ingesta de alimentos de las vacas con una concentración de insulina mayor, y una menor respuesta de la insulina a un aumento de la glucosa, se redujo en gran medida gracias al maíz de alta humedad en comparación con el maíz seco molido. Según avanza la lactación y la producción de leche disminuye, la ingesta de alimentos se ve dominada cada vez más por señales metabólicas. Las dietas muy fermentables a menudo llevan a una reducción de la ingesta de alimentos a mediados o finales de la lactancia, probablemente por la estimulación de la oxidación hepática del propionato (Allen *et al.*, 2009). La reducción de la fermentabilidad ruminal del almidón mediante la sustitución de maíz seco por maíz de alta humedad en las raciones, a menudo aumenta la ingesta de energía y su partición en esta vacías.

Varios experimentos han proporcionado dietas con diferente contenido de almidón en el período postparto (Andersen *et al.*, 2003; Rabelo *et al.*, 2005; Dann y Nelson, 2011). El aumento del contenido de almidón aumentó el DMI y la producción de leche en unos experimentos reportados por Anderson *et al.* (2003) y Rabelo *et al.* (2005), pero, en esos experimentos, se cambiaron los granos por forraje, incrementado el contenido de forraje de NDF en la dieta. El forraje NDF es muy saciante (Allen, 2000) y el gran aumento del contenido de forraje NDF en las dietas de estos estudios probablemente contribuyó a la saciedad al incrementar la distención ruminal, especialmente según iba avanzando la lactación y disminuía el estado lipolítico. Dann y Nelson (2011) sustituyeron la harina de maíz por fuentes de forraje sin fibra para aumentar el contenido de almidón de la dieta del 21% al 25,5%, y la dieta con mayor almidón redujo la DMI a 1.5 kg/d. Las fuentes de forraje sin fibra son menos saciantes que el forraje NDF (Allen, 2000), así que los efectos saciadores de las dietas eran probablemente mucho más parecidas en ese experimento que cuando se cambiaron los granos por forraje. Por lo que nosotros sabemos, solamente dos experimentos anteriores han evaluado los efectos de la fermentabilidad ruminal del almidón en las dietas de vacas en el período de posparto (Dann *et al.*, 1999; Sadri *et al.*, 2009). Un aumento de la fermentabilidad ruminal del almidón mediante la sustitución de maíz en copos (procesados con vapor) por maíz roto tiende a disminuir el DMI en más de 1 kg/d en los primeros 63 d postparto aunque no se informaron de interacciones en el tiempo y se esperaría que una mayor fermentabilidad ruminal tendría un mayor efector en las primeras pocas semanas de lactancia (Dann *et al.*, 1999). Sadri *et al.* (2009) compararon granos que variaban en relación a la fermentabilidad ruminal del almidón durante el período de transición y el tratamiento de la cebada más fermentable redujo el DMI en comparación con el maíz tanto durante el preparto y postparto. Estos resultados son coherentes con nuestras expectativas basadas en la teoría de oxidación hepática del control de la ingesta de alimentos (Allen *et al.*, 2009).

La partición de la energía entre la producción de la leche y la condición corporal varía en función del combustible disponible y según va cambiando la condición fisiológica durante la lactancia. La sustitución de la fibra por almidón altera considerablemente los combustibles disponibles para los procesos intermediarios y a menudo resulta en una mayor partición de la energía hacía la leche que hacía la condición corporal. La sustitución de cascaras de soja por maíz seco molido en una proporción de hasta un 40% de la dieta de DM aumentó el porcentaje de la grasa láctea (linealmente de 3.60 a 3.91%) y redujo la ganancia de peso corporal (linealmente del 1,02 a -0,14 kg/d) sin ningún efecto en la producción de leche (~29 kg/d) y una ligera disminución del DMI (tendencia, lineal de 23.8 a 22.7 kg/g, Ipharraguerre *et al.*, 2002). Mostramos que la pulpa de remolacha hacía reducirse el BCS sin reducir la producción de leche ni la grasa láctea cuando se sustituía por maíz de alta humedad hasta en el 12% de la dieta DM (Voelker y Allen, 2003a). Además, mostramos que una dieta con un 69% de forraje (0% grano de maíz) que contiene maíz ensilado (brown midrib corn silage) aumenta la partición de la energía hacía la leche, reduciendo la ganancia de peso corporal mientras hace aumentar numéricamente el rendimiento de FCM en comparación con una dieta con un 40% de forraje (29% grano de maíz) con maíz ensilado (Oba y Allen, 2000a). Por otro lado, el DMI y la producción de leche se vio reducido cuando el grupo de control del maíz ensilado, que tenía una digestibilidad NDF in vitro más bajo del ~20% (46.5% vs 55.9%) que el "brown midrib corn silage" fue alimentado con dietas con mayor contenido de forraje.

Según progresa la lactación, la concentración de insulina y la sensibilidad de los tejidos aumentan y la energía se particiona aún más hacía la condición corporal. La infusión de glucosa intravenoso de hasta un 30% de la energía bruta necesaria hizo aumentar de forma lineal la insulina en plasma, el balance energético, el peso corporal y el grosor de la grasa en la espalda, sin afectar el DMI o la producción de leche en vacas en la mitad de su periodo de lactancia (Al-Trad *et al.*, 2009). Un experimento llevado a cabo con vacas en los 2 últimos meses de lactancia mostró que al sustituir la pulpa de remolacha por grano de cebada se reducía linealmente la puntuación de la condición corporal y del grosor de grasa en la espalda, se mantenía la producción de leche, y linealmente se aumentaba la grasa láctea y la generación de energía (Mahjoubi *et al.*, 2009). Una menor puntuación de la condición corporal y un aumento en la grasa láctea pueden deberse a una reducción lineal de la concentración de insulina en plasma que aumentaba linealmente la concentración de plasma NEFA.

Las dietas altas en almidón pueden resultar en una mayor

concentración de insulina, una partición de energía hacía el tejido adiposo en detrimento de la leche, pero a menudo también producen un menor pH ruminal, lo cual conlleva una reducción de la grasa láctea debida a una biohidrogenación alterada de los ácidos grasos poliinsaturados en el rumen que reduce la producción de energía láctea. Mientras que la mayor retención de energía en forma de condición corporal puede aumentar la insulina como observaron Ipharraguerre *et al.* (2002) y Mahjoubi *et al.*, (200), puede que también sea debido a una expresión genética alterada del tejido adiposo. Harvatine *et al.* (2009) observaron que la reducción de grasa láctea inducida por CLA aumentaba la expresión genética de las enzimas and de los reguladores de la síntesis de la grasa en el tejido adiposo. La energía que se ahorraba por la reducción del síntesis de la grasa láctea probablemente se iba hacía las reservas de grasa del tejido adiposo. La reducción de la concentración de almidón en las raciones mediante el aumento de la fibra de los forrajes o de fuentes sin fibra de forraje puede mantener la producción de leche mientras disminuye la ganancia de la condición corporal.

El aumento de la degradabilidad ruminal del almidón por lo general aumenta el flujo de nitrógeno microbiano en el duodeno, pero la digestión del almidón ruminal excesivo puede disminuir la digestibilidad de la fibra ruminal, compensando sus efectos (Firkins *et al.*, 2001). Además, las fuentes de almidón con mayores tasas de fermentación pueden disminuir la eficiencia de la producción de la proteína microbiana; el crecimiento de microbios puede desacoplarse de la fermentación OM bajo ciertas condiciones (Russell y Cook, 1995). La mayor concentración de almidón en las raciones (32 vs. 21% de DM) aumentó el flujo del nitrógeno microbiano desde el rumen sin tener ningún efecto sobre la eficiencia de la producción de nitrógeno microbiano en un estudio de nuestro laboratorio con vacas en lactación (Oba y Allen, 2003b). Sin embargo, aunque la digestibilidad del almidón ruminal aumentó en maíz de humedad alta en comparación con el maíz seco molido en ese experimento, el maíz con alto contenido de humedad hizo disminuir la eficiencia de la producción de nitrógeno microbiano en comparación con el maíz seco y no afectó al flujo de nitrógeno microbiano desde el rumen. Mientras se observó una relación positiva del flujo de nitrógeno microbiano con la verdadera digestibilidad OM ruminal en ese experimento, se observó una relación negativa con a la velocidad de la digestión del almidón en todos los periodos de las vacas. La proliferación microbiana podría limitarse cuando el ritmo de la digestión del almidón es muy rápido (Oba y Allen, 2003b). Por lo tanto, aumentando la degradación del almidón ruminal mediante el aumento de la concentración del almidón en la dieta puede mejorar el flujo de nitrógeno microbiano al duodeno más que el aumento de la fermentabilidad ruminal del almidón.

LA FORMULACIÓN DE LAS RACIONES PARA EL ALMIDÓN

Sabemos mucho acerca de los factores que afectan la digestibilidad ruminal del almidón que pueden ser utilizados de manera rutinaria para la formulación de raciones, incluso si no podemos medir con precisión la tasa de digestión y de paso del almidón. La concentración del almidón y la digestibilidad ruminal es tan variable entre los alimentos que podemos medir la concentración de almidón y usar los valores de la digestibilidad ruminal que aparecen en la literatura para la formulación inicial, que puede ajustarse con el conocimiento cualitativo de los factores que afectan a la digestibilidad ruminal del almidón discutida anteriormente. Aunque debemos esforzarnos en mejorar la exactitud de la predicción en el tiempo, no somos capaces de predecir con precisión la respuesta animal a la concentración y a la fermentabilidad del almidón debido a las numerosas interacciones que finalmente afectan la respuesta, tales como la densidad de estabulado, concentración de fibra efectiva, la producción de leche, el estado fisiológico, etc. Sin embargo, la formulación de las raciones debería ser un proceso iterativo que incluye a las vacas en el bucle; la evaluación de cómo responde la vaca proporcionará información para optimizar las dietas. Los efectos sobre las vacas incluyen el DMI; la producción de leche, grasa y proteína; el nitrógeno ureico en leche; la condición corporal; la consistencia del estiércol; las cetonas; etc. Los granos con diferente fermentabilidad ruminal del almidón, pero que tienen una alta digestibilidad del tracto entero (por ejemplo, maíz con alto contenido de humedad y maíz seco molido), permiten la evaluación de la digestibilidad ruminal del almidón óptima sin otros efectos de confusión (por ejemplo, los efectos de cambiar la concentración de forraje NDF en la ingesta de alimento) y se puede reducir la concentración de almidón de la dieta sustituyendo una fuente de fibra no-forraje, tales como la pulpa de remolacha, las cascaras de soja, o los piensos de gluten de maíz, por granos.

La alimentación en grupo complica la interpretación de los efectos de la DMI y de la producción de leche. El promedio de producción de leche en un grupo enmascara los efectos de las dietas debido a que se pueden dar grandes cambios en la producción de leche de vacas individuales dentro del grupo sin ningún cambio en la producción global de leche del grupo. Esto es más evidente cuando todas las vacas lactantes (con grandes diferencias en el estado fisiológico) toman la misma dieta. Los medidores de leche individuales proporcionan información sobre la reacción de individuos dentro del grupo y son una herramienta importante para la formulación de la dieta y para la agrupación. Lo mismo es cierto de la reacción individual ante el DMI, pero esto no es viable económicamente para las vacas estabuladas en grupo. Mientras que eso limita la utilidad de la determinación del DMI para el grupo, es una medida muy útil, particularmente en combinación con la producción de leche para proporcionar importantes pistas sobre los efectos del cambio de dieta. La evaluación de los efectos sobre las vacas requiere más atención por parte de los nutricionistas y más coordinación con los equipos de gestión de las explotaciones. El grado en que los nutricionistas y el equipo directivo interactúan varía de explotación a explotación, pero este es un importante factor determinante del éxito del programa de nutrición. Las siguientes recomendaciones para la concentración y la fermentabilidad ruminal de almidón para las vacas a medida que transcurre la lactancia debe ajustarse según lo indicado a la respuesta de cada vaca.

Fresh Cow Ration (parto hasta ~10-14 días posparto)

Las vacas recién paridas están en un estado lipolítico, corren un mayor riesgo de trastornos metabólicos y el consumo de alimento esta probablemente controlada por la oxidación de los combustibles en el hígado (Allen *et al.*, 2009). Estas vacas necesitan precursores de la glucosa y las raciones deben contener altas concentraciones de almidón en la medida de lo posible. No obstante, también tienen menor masa de bolo alimenticio en el rumen, lo que aumenta el riesgo de acidosis ruminal y abomaso desplazado. Las fuentes de almidón altamente fermentable aumenta la producción de ácido de fermentación incluyendo el propionato, lo que puede estimular la oxidación de los combustibles en el hígado, suprimiendo el consumo de alimento (Allen *et al.*, 2009). Por lo tanto, las fuentes con almidón altamente fermentable deben limitarse durante este período que dura hasta dos semanas para la mayoría de las vacas, pero aún más para las vacas con excesiva condición corporal al parto. Las fuentes de almidón altamente

fermentable, como el trigo, la cebada, el maíz en copos de baja densidad, y maíz de alta humedad maduro (más de 1 año de edad) y el maíz ensilado debe limitarse **para permitir mayores concentraciones de almidón (y precursores de la glucosa)** con menor riesgo de acidosis o abomaso desplazado. Complementar las dietas a base de maíz ensilado con maíz molido seco funciona bien para este tipo de ración con una concentración de almidón total de hasta un 28% (masa DM) dependiendo de la fermentabilidad de almidón en el maíz ensilado. Como el consumo de alimento se ve menos limitado por la distensión ruminal durante este período, y es deseable un mayor bolo alimenticio en el rumen, la concentración de forraje NDF debe ser superior al 23% y el uso de fuentes de fibra no-forraje se debería limitar a diluir la concentración de almidón, si es necesario. Las concentraciones de almidón deben reducirse cuando la alimentación incluye fuentes de almidón altamente fermentables.

La Ración entre el Comienzo y la Mitad del periodo de Lactancia

Las vacas a principios o mediados del periodo de lactación tienen altos requerimientos de glucosa para la producción de leche y dedican relativamente poca energía a las reservas corporales. Responden bien a las raciones de forraje con menor concentración de NDF (bajo) y con almidón altamente fermentable. La concentración de almidón de las raciones debe estar en el rango de 25 al 30% (DM) aunque la concentración óptima depende de la competencia por espacio de litera, forraje/concentración NDF eficaz, y la fermentabilidad del almidón. Las raciones con más almidón y menos saciantes generalmente aumentan el pico de producción de leche y disminuyen la pérdida de la condición corporal en el comienzo de la lactancia. Sin embargo, una vez que las vacas reponen su condición corporal perdida en el comienzo de la lactancia, deben cambiarse a una dieta de mantenimiento con menor concentración de almidón y fermentabilidad ruminal.

La Ración de Mantenimiento (> 150 DIM y un BCS de 3)

La ración de mantenimiento es el componente clave de la formulación de la ración / sistema de agrupamiento para aumentar la salud y la producción de las vacas. El objetivo de la ración de mantenimiento es mantener la producción de leche y la condición corporal a lo largo del resto de la lactancia. Las vacas deben tomar la ración de mantenimiento cuando se están recuperando el BCS y llegan a un BCS de 3. Si siguen recibiendo una dieta alta en almidón, el BCS seguirá aumentando y correrán mayor riesgo de sufrir enfermedades metabólicas tras el parto. Las pruebas presentadas anteriormente, sugieren que están mejorando su condición porque están siendo alimentadas con raciones con mayores concentraciones de almidón necesarias para sus necesidades actuales de producción de leche, aumentando las concentraciones de insulina y glucosa plasmática. Bajar la concentración de almidón de la ración debería limitar la mejora de la condición corporal mientras se mantiene y posiblemente se mejora la ingesta de pienso, la producción de leche, y de la grasa láctea. La concentración óptima de almidón depende de la producción de leche del rebaño de los grupos físicos posibles, pero probablemente será del rango de 18 a 22% (DM). Se debe evitar las fuentes de almidón que son altamente fermentables (el maíz de alta humedad, restos de panadería, maíz ensilado antiguo, etc.). El maíz seco molido es una excelente fuente de almidón porque tiene menor digestibilidad ruminal (~60%) pero una alta digestibilidad total del tracto (< 90%). La concentración de almidón en la ración de mantenimiento debe contener la suficiente, pero no excesiva, concentración de forraje NDF para mantener el DMI, y se pueden usar fuentes de fibra no-forraje (pulpa de remolacha, piensos de gluten de maíz, cascaras de soja, etc.) para diluir el almidón a la concentración deseada. La supervisión del BCS en la dieta de vaca seca es esencial para ajustar la concentración de almidón de la dieta de mantenimiento a lo largo del tiempo.

CONCLUSIONES

La concentración y la fermentabilidad ruminal del almidón son muy variables en las raciones dadas a las vacas en lactación y tienen grandes efectos sobre el consumo de alimento, la partición de la energía, la producción de leche, y la salud. La concentración óptima de almidón y las fuentes de almidón en las raciones varía con la condición fisiológica de las vacas, que cambia a lo largo de la lactancia. Las vacas deben ser alimentadas con raciones diferentes a lo largo de la lactancia para maximizar el uso de los conocimientos existentes sobre el almidón de la nutrición.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. J. Anim. Sci. 74:3063-3075.
- Allen, Mike. Corn silage slump hit again this year. Hoard's Dairyman, January 25, 1998.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598-1624.
- Allen, M.S., R. A. Longuski and Y. Ying. 2008. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91(E Suppl):529.
- Allen, M.S. 2011. Mind over models. Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conf., Dept. Dairy Sci., Ohio State University, Columbus, Ohio 43210.
- Allen, M.S., B.J. Bradford, and K.J. Harvatine. 2005. The cow as a model to study food intake regulation. Ann. Rev. Nutr. 25:523-547.
- Allen, M.S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. J. Anim. Sci. 87: 3317-3334.
- Allen, M.S., R. A. Longuski and Y. Ying. 2008. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91(E Suppl):529
- Allen, M. S., R.J. Grant, W. P. Weiss, G. W. Roth, and J. F. Beck. 2003. Effects of endosperm type of corn grain on starch degradability by ruminal microbes *in vitro*. J. Dairy Sci. 86S:61.
- Al-Trad, B., K. Reisberg, T. Wittek, G. B. Penner, A. Alkaassem, G. Gabel, M. Fürll, and J. R. Aschenbach. 2009. Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5645-5658.
- Andersen, J. B., N. C. Friggens, K. Sejrsen, M. T. Sorensen, L. Munksgaard, and K. L. Ingvartsen. 2003. The effects of low vs. high concentrate level in the diet on performance in cows milked two or three times daily in early lactation. Livest. Prod. Sci. 81:119-128.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2004. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2004 87: 3800-3807.

- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2007. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. J. Dairy Sci. 90:3838-3845.
- Dann, H. M., G. A. Varga, and D. E. Putnam. 1999. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 1765-1778.
- Dann, H. M., and B. H. Nelson. 2011. Early lactation diets for dairy cattle – focus on starch. Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Syracuse, NY.
- Dehority, B. A. 1969. Pectin-fermenting bacteria isolated from the bovine rumen. J. Bacteriol. 99:189-196.
- Fickett, F. M. and M. S. Allen. 2002. Ruminal fluid effects on *in vitro* digestion kinetics of starch. J. Dairy Sci. 85S:181.
- Firkins, J. L., M. L. Eastridge, N. R. St-Pierre, and S. M. Noftsger. 2001. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. J. Anim. Sci. 79(E. Suppl.):E218–E238.
- Harvatine K. J., J. W. Perfield II, and D. E. Bauman. 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis is upregulated in adipose tissue during CLA-induced milk fat depression in dairy cows. J. Nutr.139: 849-854.
- Hoffman, P. C. and R. D. Shaver. 2010. The nutritional chemistry of dry and high moisture corn. Pp. 179-192. Proc. 10th Western Dairy Management Conference, Department of Animal Science, Kansas State University, Manhattan, KS.
- Hoffman, P. C., D. Ngonyamo-Majee, and R. D. Shaver. 2010. Technical note: Determination of corn hardness in diverse corn germplasm using near-infrared reflectance baseline shift as a measure of grinding resistance. J. Dairy Sci. 93: 1685-1689.
- Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. J. Anim. Sci. 75:852-867.
- 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.
- Kotarski, S. F., R. D. Waniska and K. K. Thurn. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. J. Nutr. 122:178.
- Mahjoubi, E., H. Amanlou, D. Zahmatkesh, M. Ghelich Khan, and N. Aghaziarati. 2009. Use of beet pulp as a replacement for barley grain to manage body condition score in over-conditioned late lactation cows. Anim. Feed Sci. Tech. 153:60-67.
- Ngonyamo-Majee, D, R.D. Shaver, J.G. Coors, D. Sapienza, J. G. Lauer. 2008. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm II. Ruminal and post-ruminal degradabilities. Anim. Feed Sci. Tech. 142:259-274.
- Nocek, J. E., and S. Tamminga. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk and composition. J. Dairy Sci. 74:3598.
- Oba, M. 2011. Review: Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 91:37-46.
- Oba, M., and M. S. Allen. 2000a. 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.
- Oba, M., and M. S. Allen. 2000b. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 3. Digestibility and microbial efficiency. J. Dairy Sci. 83:1350-1358.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003a. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. J. Dairy Sci. 86:184-194.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003b. Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:195-207.
- Patton, R. A., J. R. Patton, and S. E. Boucher. 2012. Defining ruminal and total-tract starch degradation for adult dairy cattle using *in vivo* data. J. Dairy Sci. 95:765-782.
- Phillipeau, C. and B. Michalet-Doreau, 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. Anim. Feed Sci. Technol. 68:25-35.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 2005. Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 88:4375-4383.
- Reynolds, C. K., P. C. Aikman, B. Lupoli, D. J. Humphries, and D. E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J Dairy Sci. 86:1201-1217.
- Russell, J. B., and G. M. Cook. 1995. Energetics of bacterial growth: balance of anabolic and catabolic reactions. Microbiol. Rev. 59:48-63.
- Sadri, H., G. R. Ghorbani, H. R. Rahmani, A. H. Samie, M. Khorvash, and R. M. Bruckmaier. 2009. Chromium supplementation and substitution of barley grain with corn: effects on performance and lactation in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5411-5418.
- Sutton, J. D., M. S. Dhanoa, S. V. Morant, J. France, D. J. Napper, and E. Schuller. 2003. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. J. Dairy Sci. 86:3620-3633.
- Taylor, C. C. and M. S. Allen. 2005. Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: site of digestion and ruminal digestion kinetics in lactating cows. J. Dairy Sci. 88:1413-1424.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003a. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3542-3552.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003b. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 2. Effects on digestion and ruminal digestion kinetics in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3553-3561.
- Voelker, J. A., G. M. Burato, and M. S. Allen. 2002. Effects of pretrial milk yield on responses of feed intake, digestion, and production to dietary forage concentration. J. Dairy Sci. 85:2650-2661.
- Ying, Y. and M. S. Allen. 2005. Effects of corn grain endosperm type and conservation method on site of digestion, ruminal digestion kinetics and microbial nitrogen production in lactating cows. J. Dairy Sci. 88S:393.

ENGLISH VERSION

Starch availability, measurement and implications for ration formulation

M. S. Allen

Department of Animal Science, Michigan State University

SUMMARY

Concentration and ruminal digestibility of starch in rations of lactating cows has important effects on productivity. Starch is more digestible and less filling than forage fiber and provides more glucose precursors than fiber from any source. Ruminal fermentability of starch is affected by grain and endosperm type, processing and conservation method, and diet and animal factors, and affects production of fermentation acids and microbial protein in the rumen. Excessive ruminal fermentability can decrease fiber digestibility, efficiency of microbial protein production, and alter ruminal biohydrogenation, decreasing synthesis of milk fat and increasing energy partitioned to body condition at the expense of milk.

The concentration and ruminal fermentability of starch affects feed intake, and energy partitioning of cows differently as they progress through lactation. High-producing cows in early to mid-lactation thrive on high-starch rations with highly fermentable starch sources while starch concentration and fermentability should decrease as lactation progresses to maintain yield of milk fat and prevent excessive body condition. Highly fermentable starch sources should be limited in rations for the first two weeks following parturition to avoid further depression in feed intake, and decrease risk of ruminal acidosis and displaced abomasum. Grouping cows by physiological state (fresh, early to mid, maintenance) is required to formulate diets for starch to optimize health and production.

INTRODUCTION

Starch is a highly digestible and energy dense feed component that typically ranges from less than 20% to greater than 28% in rations fed to lactating dairy cows. Forages are supplemented with cereal grains to increase energy density, provide glucose precursors, and decrease the filling effects of rations. Starch is composed of polymers of glucose (amylose and amylopectin) with bonds that are readily cleaved by mammalian enzymes. However, starch is packaged in granules that are embedded in a protein matrix in the seed endosperm, which varies in solubility and resistance to digestion (Kotarski *et al.*, 1992). These differences in endosperm type have great effects on ruminal fermentability of starch, which ranges widely; ruminal fermentability of starch from various cereal grains ranges from less than 30% to more than 90% (Nocek and Tamminga, 1991; Firkins *et al.*, 2001). Altering the concentration and ruminal fermentability of starch in rations affects digestibility of starch (Ngonyamo-Majee *et al.*, 2008), ruminal pH and fiber digestibility (Firkins *et al.*, 2001), and the type, amount, and temporal absorption of fuels (e.g. acetate, propionate, lactate, glucose) available to the cow (Allen, 2000). This has great effects on lactational performance by affecting energy intake and partitioning as well as absorbed protein (Allen *et al.*, 2009). In addition, effects on animal performance depend upon physiological state of cows, which varies greatly through lactation (Allen *et al.*, 2005). Therefore the optimum concentration and ruminal fermentability of starch in rations of lactating cows vary through lactation. The objective of this paper is to discuss what determines site of digestion and total tract digestibility of starch, effects of concentration and ruminal fermentability of starch on animal performance, and considerations related to starch for formulating diets for lactating dairy cows.

STARCH FERMENTABILITY

Ruminal fermentability of starch is highly variable and affected by grain type, vitreousness, processing (e.g. rolling, grinding, steam flaking), conservation method (dry or ensiled), ration composition, and animal characteristics. Starch in wheat, barley and oats is generally more readily fermented than starch in corn, and starch in sorghum is most resistant to fermentation in the rumen and digestion by the animal (Huntington, 1997). These differences are largely because of differences in endosperm type rather than differences in starch composition (amylose vs. amylopectin) per se. Floury endosperm contains proteins that are readily solubilized, allowing greater access of enzymes to starch granules while vitreous endosperm contains prolamin proteins that are insoluble and resistant to digestion, decreasing access of enzymes to starch granules (Hoffman and Shaver, 2010). Starch sources vary in amount and proportion of the two types of endosperm and there is large variation in vitreousness of the endosperm (percent of the total endosperm that is vitreous) among varieties within certain grain types. Endosperm vitreousness in corn harvested dry ranges from 0% to greater than 75% and corn with more vitreous endosperm is more resistant to both particle size reduction by grinding and digestion (Hoffman *et al.*, 2010) than corn with more-floury endosperm. Vitreousness increases with increasing maturity at harvest (Phillipeau and Michalet-Doreau, 1997), so differences among corn hybrids are greatest when field dried. Because corn silage is harvested earlier than high moisture corn, the grain will have less vitreous endosperm and more moisture when harvested from the same field as whole plant silage compared with high-moisture corn. However, there can be large differences in vitreousness within corn silage harvested between 30% and 40% dry matter and within high moisture corn harvested between 60% and 75% dry matter (40 and 25% moisture) from the same field.

When grains are ensiled, ruminal fermentability of starch can be greatly affected by both grain moisture concentration and storage time. This is because ensiling solubilizes endosperm proteins over time, increasing starch fermentability. The increase in protein solubility and starch fermentability over time is greatest for grains with higher moisture concentration (Figure 1; Allen *et al.*, 2003). Therefore, the change is greatest for wetter corn silage and least for drier, high-moisture corn. This change is greatest over the first few months of ensiling and must be anticipated and accounted for when formulating rations. Because of this, it is recommended to wait several months after ensiling before feeding corn silage (Allen, 1998). However, the change continues for months at a slower rate and corn silage and high moisture corn stored for long periods (one or two years or more) can be difficult to feed in high concentrations because it is so readily fermented.

Processing increases rate of starch digestion and the effects are greater for grains with more vitreous endosperm such as sorghum and corn (Huntington, 1997). Access of enzymes to starch granules is increased by steam flaking, which causes swelling and disruption of kernel structure, and reducing particle size by rolling or grinding whole grains, or processing silage to crush kernels, which greatly increases surface area. Dry grains can be finely ground, greatly decreasing effects of endosperm vitreousness on ruminal fermentability. Processing (rolling) corn silage is not as effective at increasing surface area as fine grinding; processing can reduce, but not eliminate, differences in digestibility of sources varying in vitreousness.

MEASURING STARCH CONCENTRATION AND FERMENTABILITY

Starch concentration is relatively consistent within cereal grain types but varies greatly within forages containing starch such as corn silage and small grain silages. Therefore, book values for starch concentration may be acceptable for cereal grains but starch concentration must be measured for forages from grain crops. For instance, the starch concentration of corn silage varies from less than 20 to over 50% of DM depending upon grain concentration, which, in turn is dependent upon genetics, environment and maturity at harvest. The starch concentration of corn silage is inversely related to concentration of NDF; fibrous stover fraction of the plant is enriched if kernels don't fill.

The non-fiber carbohydrate (NFC) concentration of diets should not be relied upon as a measure of starch concentration. The NFC fraction is calculated by subtracting measured components (NDF, CP, ether extract, ash) from total DM. It contains other carbohydrates such as sugars and pectin and can be underestimated to the extent that non-protein nitrogen is present. While starch, sugars and pectin are generally highly digestible, their effects on rumen microbial populations and fuels available to the animal differ greatly. Starch that is ruminally-fermented increases propionate production in the rumen (Sutton *et al.,* 2003) and starch that escapes ruminal fermentation provides glucose that is absorbed or metabolized to lactate in the small intestine (Reynolds *et al.*, 2003). Sugars are nearly completely fermented in the rumen and generally increase butyrate production (Oba, 2011). Most strains of pectin-degrading rumen bacteria produce acetic and formic acids and relatively little propionic acid (Dehority, 1969). Propionic and lactic acids are glucose precursors while formic, acetic, and butyric acids are not. In addition, propionate can decrease feed intake under some conditions (Allen, 2000) and starch, sugars, and pectin have different effects on microbial populations in the rumen that can affect fiber digestion and ruminal biohydrogenation of fatty acids. Therefore, NFC is not a useful proxy for starch when formulating rations for lactating cows.

Table 1. Effects of dietary treatment on passage rate (kp) of starch from the rumen[1].

Experiment	Treatment	kp, %/h	*P* value
Oba and Allen, 2000b	bm3 corn silage	12.9	0.02
	control corn silage	10.6	
	29% diet NDF	14.5	<0.0001
	38% diet NDF	9.0	
Oba and Allen, 2003a	high-moisture corn	15.4	0.07
	dry ground corn	19.7	
Voelker and Allen, 2003b	high-moisture corn	15.9	0.01
	24% beet pulp	23.5	
Ying and Allen, 2005	high-moisture corn	7.1	<0.0001
	dry ground corn	16.3	
	vitreous endosperm	16.0	<0.001
	floury endosperm	7.5	
Taylor and Allen, 2005	vitreous endosperm	21.2	0.10
	floury endosperm	16.2	
Allen *et al.*, 2008	vitreous endosperm	25.7	<0.001
	floury endosperm	16.0	

[1]Determined by dividing duodenal flux (g/h) by rumen pool size (g) and multiplying by 100.

Relative differences in rate of starch digestion can be determined by *in vitro* starch digestion (IVSD) with ruminal microbes. This can be done by incubating samples over time in rumen fluid with buffered media and evaluating the rate of starch disappearance or, less costly and equally informative, by evaluating starch disappearance over a period of time (e.g. 7 hours). We began using a 7-h incubation time over 20 years ago when our objective was to predict *in vivo* ruminal digestibility of starch because we thought it was a reasonable mean residence time of starch in rumens of lactating cows. However, we subsequently realized that was naïve because ruminal digestibility of starch *in vivo* is highly affected by the enzyme activity of the rumen fluid and particle size of the starch source, and that residence time of starch in the rumen is extremely variable, not only across cows, but also across sources of starch (Table 1). We continue to use IVSD with a 7 h retention time because we think it provides useful information about relative rates of fermentation among starch sources. However, it is very important to know that 7-h IVSD is a relative measure of rate of starch digestion among sources only. Samples must be ground before analysis, which removes important variation for many comparisons (e.g. processed vs. unprocessed corn silage). Comparisons must be done in the same *in vitro* run (at the same time) because IVSD of the same sources is highly variable across runs. This is because enzyme activities (amylases and proteases) of rumen fluid are highly variable from cow to cow, time relative to feeding, and diet consumed. In our laboratory, the coefficient of variation for 7-h IVSD across runs can be as high as 25% even after attempting to minimize variation by taking rumen fluid from several cows fed a specific diet at the same time of day relative to feeding. This is much higher than our coefficient of variation for 30-h *in vitro* NDF digestibility of less than 3%.

Because starch digestion is inhibited by insoluble proteins in the endosperm, the solubility of protein has been measured as an indicator of relative differences in starch digestibility. Like IVSD, determination of protein solubility requires grinding samples, removing variation among sources. Because it is a chemical rather than biological measure, it is less variable across runs than IVSD. Accuracy of ruminal starch digestibility prediction from protein solubility is limited by the relationship between protein solubility and rate of starch digestion as well as limited knowledge of passage rate of starch from the rumen. Therefore, like IVSD, measures of protein solubility provide some information related to ruminal starch digestion but cannot be used to measure ruminal starch digestibility accurately.

Prediction by Models

Although measurement of digestion rate of feed fractions *in vitro* and *in situ* can provide relevant information regarding relative differences among feeds, absolute, not relative, values are required by models to predict ruminal digestibility. Therefore, despite their promise, ration formulation models that include rumen sub-models such as CNCPS do not predict ruminal starch digestibility accurately even if *in vitro* rates of starch digestion are used as inputs (Allen, 2011). Accuracy and precision of prediction of ruminal starch digestibility was poor for several models including CPM and AMTS in a recent evaluation; AMTS and CPM over-predicted ruminal starch digestibility for corn grain by over 25 percentage units (~80% vs. 55%), leading the authors to conclude that the model estimates were not useful (Patton *et al.*, 2012). The primary factors limiting accurate determinations of digestion rate *in vitro* or *in situ* are 1) the inability to mimic the increase in surface area and breakdown of particle size by rumination, 2) variation in enzyme activity and ratio of enzyme to substrate in the rumen over time, and 3) lack of understanding and data on passage rates of starch.

Rates of starch digestion determined *in vitro* are much different than actual rates of digestion because feed particles containing starch that are consumed by cows are larger than what is required for *in vitro* analysis and because enzyme activity in the rumen is extremely variable depending upon diet, time since eating, and the cow. Grinding feeds is necessary to obtain uniform samples for analysis in the laboratory but grinding increases surface area accessible to microbes, increasing rate of digestion compared to intact feeds *in vivo*. On the other hand, not grinding at all will underestimate rate of digestion because feeds are crushed and ground by chewing over time, before they pass from the rumen. This is an unsolvable problem because simulation of the effects of chewing over time of incubation *in vitro* or *in situ* is infeasible.

The high variation in IVSD across runs prompted us to evaluate the effect of rumen fluid sampled before and after feeding on IVSD-7h which was 33% greater after feeding compared to before feeding (41.2 vs. 30.9%, P < 0.01; Fickett and Allen, 2002). Enzyme activity related to starch fermentation is also increased with higher starch diets; we reported that the fractional rate of starch digestion determined *in vivo* with the pool and flux method was greater for diets with higher starch concentration and lower NDF from forage (Oba and Allen, 2003a) or beet pulp (Voelker and Allen, 2003b). Therefore, at least for starch, digestion is a second-order process dependent upon both substrate and enzyme activity. This is a problem for utilization of current data with most existing models in which digestion is modeled as a first-order process dependent on feed characteristics only.

Passage rate of starch was greatly affected by particle size, conservation method, and endosperm type for corn (Table 1; Ying and Allen, 2005; Allen *et al.*, 2008). However, little data exists for passage rates of starch and how it is affected by diet and level of intake. Because passage rate is as important as digestion rate for determining ruminal starch digestibility, accurate predictions by models that use digestion kinetics to predict starch digestibility are not currently possible. In addition, models such as CNCPS that use digestion rates for carbohydrate fractions but passage rates for entire feeds result in even greater inaccuracies for determination of ruminal starch digestion.

PRODUCTION RESPONSE

The filling effects and fermentability of rations are affected by the concentration and ruminal fermentability of starch and can affect DMI, nutrient partitioning, microbial protein production, and total-tract digestibility. Increasing the starch concentration of the ration offered to lactating cows from ~23 to ~34% (~24 to 16% forage NDF, respectively) resulted in variable effects on DMI and FCM yield depending upon the milk yield of cows (range in FCM: ~50 to ~130 lb/d); DMI response to the high-starch, low forage NDF ration increased linearly with increasing milk yield of cows throughout the range while FCM response increased only for cows above ~90 lb/d of FCM (Voelker and Allen, 2003a; Figure 2). Response for DMI was likely because the higher starch diet was less filling (16% forage NDF) and rumen fill is a greater limitation to feed intake as milk yield increases (Allen, 1996), while response for FCM likely depended upon effects of the ration on digestibility and energy partitioning among cows.

The physiological state of animals determines the effects of starch fermentability on DMI (Bradford and Allen, 2007) and production (Bradford and Allen, 2004) responses. High moisture corn compared with dry ground corn had opposite effects on milk yield for cows depending on initial milk yield, with no change for the group overall; high moisture corn increased concentration of milk fat and yield of FCM for cows producing over ~90 lb/day but decreased both for cows producing less than that amount (Bradford and Allen, 2004). Effect of treatment on DMI was not related to milk yield but was affected by physiological state of cows; depression in DMI by the high moisture corn compared with the dry corn treatment was related to plasma insulin concentration and insulin response to a glucose challenge (Bradford and Allen, 2007). Feed intake of cows with greater insulin concentration, and lower insulin response to a glucose challenge, was depressed to a greater extent by high moisture corn compared with dry ground corn. As lactation proceeds and milk yield declines, feed intake is increasingly dominated by metabolic signals. Highly fermentable diets often decrease feed intake in mid to late lactation, likely from stimulation of hepatic oxidation by propionate (Allen *et al.*, 2009). Reducing ruminal fermentability of starch by substituting dry corn for high moisture corn in rations often increases energy intake and partitioning to milk for these cows.

Several experiments have fed diets differing in starch content in the postpartum period (Andersen *et al.*, 2003; Rabelo *et al.*, 2005; Dann and Nelson, 2011). Increasing diet starch content increased DMI and milk yield in experiments reported by Andersen *et al.* (2003) and Rabelo *et al.* (2005) but in those experiments grains were substituted for forage, increasing the forage NDF content of the diet. Forage NDF is very filling (Allen, 2000) and large increases in the forage NDF content of diets in these studies likely contributed to satiety by increasing ruminal distention, especially as lactation progressed and the lipolytic state diminished. Dann and Nelson (2011) substituted corn meal for non-forage fiber sources to increase diet starch content from 21% to 25.5% and the higher starch diet decreased DMI 1.5 kg/d. Non-forage fiber sources are much less filling than forage NDF (Allen, 2000) so the filling effects of the treatment diets were likely much more similar in that experiment than when grains are substituted for forage. To our knowledge, only two previous experiments have evaluated the effects of ruminal fermentability of starch in diets fed to cows in the postpartum period (Dann *et al.*, 1999; Sadri *et al.*, 2009). Increasing ruminal starch fermentability by substituting steam-flaked corn for cracked corn tended to decrease DMI by more than 1 kg/d over the first 63 d postpartum although interactions with time were not reported and greater ruminal fermentability would be expected to have a greater effect in the first few weeks of lactation (Dann *et al.*, 1999). Sadri *et al.* (2009) compared grains varying in ruminal starch fermentability through the transition period and the more fermentable barley treatment decreased DMI compared with corn during both the prepartum and postpartum periods. These results are consistent with our expectations according to the hepatic oxidation theory of the control of feed intake (Allen *et al.*, 2009).

Energy partitioning between milk production and body condition varies depending upon fuels available and as physiological state changes throughout lactation. Substitution of fiber for starch greatly alters fuels available for intermediary processes and often results in greater partitioning of energy to milk rather than body condition. Substitution of soyhulls for dry ground corn up to 40% of diet DM increased milk fat percent (linearly from 3.60 to 3.91%) and decreased body weight gain (linearly from 1.02 to -0.14 kg/d) with no effect on milk yield (~29 kg/d) and a slight decrease in DMI (tendency, linearly from 23.8 to 22.7 kg/g, Ipharraguerre *et al.*, 2002). We showed that beet pulp decreased BCS without decreasing yields of milk or milk fat when substituted for high-moisture corn up to 12% of diet DM

(Voelker and Allen, 2003a). Furthermore, we showed that a 69% forage diet (0% corn grain) containing brown midrib corn silage increased energy partitioned to milk, decreasing body weight gain while numerically increasing FCM yield compared with a 40% forage diet (29 % corn grain) containing control corn silage (Oba and Allen, 2000a). In contrast, DMI and milk yield was reduced when the control corn silage, which had ~20% lower *in vitro* NDF digestibility (46.5% vs. 55.9) than the brown midrib corn silage, was fed in the higher forage diets.

As lactation proceeds, insulin concentration and sensitivity of tissues increase and energy is increasingly partitioned to body condition. Intravenous glucose infusion of up to 30% of net energy requirement linearly increased plasma insulin, energy balance, body weight and back fat thickness, without affecting DMI or milk yield of mid-lactation cows (Al-Trad *et al.*, 2009). An experiment conducted with cows in the last 2 months of lactation showed that substitution of beet pulp for barley grain linearly decreased body condition score and back fat thickness, maintained milk yield and linearly increased milk fat yield and milk energy output (Mahjoubi *et al.*, 2009). Decreased body condition score and increased milk fat yield might have been because of a linear decrease in plasma insulin concentration which linearly increased plasma NEFA concentration.

High starch diets might result in greater insulin concentration, partitioning energy to adipose at the expense of milk, but they also often result in lower ruminal pH resulting in milk fat depression from altered biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids in the rumen reducing milk energy output. While increased energy retention as body condition might be because of increased insulin as observed by Ipharraguerre *et al.* (2002) and Mahjoubi *et al.*, (2009), it might also be a result of altered gene expression in adipose tissue. Harvatine *et al.* (2009) reported that CLA-induced milk fat depression increased gene expression for enzymes and regulators of fat synthesis in adipose tissue. The energy spared from the reduction in milk fat synthesis was likely partitioned toward adipose tissue fat stores. Reducing ration starch concentration by increasing fiber from forages or non-forage fiber sources can maintain milk yield while decreasing gain in body condition.

Increasing ruminal degradability of starch generally increases microbial nitrogen flow to the duodenum but excessive ruminal starch digestion might decrease ruminal fiber digestibility, offsetting its effects (Firkins *et al.*, 2001). In addition, starch sources with faster rates of fermentation might decrease efficiency of microbial protein production; microbial growth can be uncoupled from OM fermentation under some conditions (Russell and Cook, 1995). Greater concentration of starch in rations (32 vs. 21% of DM) increased flow of microbial nitrogen from the rumen with no effect on efficiency of microbial nitrogen production in a study from our laboratory with lactating cows (Oba and Allen, 2003b). However, although ruminal starch digestibility was increased by high moisture corn compared with dry ground in that experiment, high moisture corn decreased efficiency of microbial nitrogen production compared with dry corn and did not affect flow of microbial nitrogen from the rumen. While flow of microbial nitrogen was positively related to true ruminal OM digestibility in that experiment, it was negatively related to rate of starch digestion across all cow period means. Microbial growth might be limited when rate of starch digestion is very fast (Oba and Allen, 2003b). Therefore, increasing ruminal starch degradation by increasing starch concentration of diets might improve flow of microbial nitrogen to the duodenum to a greater extent than increasing ruminal fermentability of starch.

FORMULATING RATIONS FOR STARCH

We know a great deal about what factors affect ruminal digestibility of starch that can be routinely used for ration formulation even if we cannot accurately measure rates of digestion and passage of starch. Starch concentration and ruminal digestibility is so variable across feeds that we can measure starch concentration and use literature values for ruminal digestibility for initial formulation which can be adjusted using qualitative knowledge of factors that affect ruminal starch digestibility discussed above. Although we should strive to increase accuracy of prediction over time, we are not able to accurately predict animal responses to starch concentration and fermentability because of the many interactions that ultimately affect response such a stocking density, effective fiber concentration, milk yield, physiological state, etc. However, ration formulation should be an iterative process that includes cows in the loop; evaluation of cow response will provide feedback to optimize diets. Cow responses include DMI; yields of milk, fat, and protein; milk urea nitrogen; body condition; manure consistency; ketones; etc. Grains that differ in ruminal starch fermentability, but have high whole tract digestibility (e.g. high moisture corn and ground dry corn), allow evaluation of optimal ruminal starch digestibility without other confounding effects (e.g. effects of changing forage NDF concentration on feed intake) and diet starch concentration can be reduced by substitution of a non-forage fiber source, such as beet pulp, soyhulls, or corn gluten feed, for grains.

Group feeding complicates interpretation of responses for DMI and milk yield. Mean milk yield for the group masks effects of diets because large changes in milk yield of individual cows within the group might occur with no change in milk yield for the group overall. This is most evident when all lactating cows (with great differences in physiological state) are offered the same diet. Individual milk meters provide timely feedback regarding response of individuals within the group and are an important tool for diet formulation and grouping. The same is true for individual DMI response, but this is not feasible economically for group-housed cows. While that limits the usefulness of DMI determination for the group, it is still a very useful measurement, particularly in combination with milk yield to provide important clues for the effects of the diet change. Evaluation of cow response requires more attention by nutritionists and coordination with the management teams on farms. The extent to which nutritionists and the management team interact will vary from farm-to-farm, but this is an important determinant of the success of the nutrition program. The following recommendations for ration starch concentration and ruminal fermentability for cows as they progress through lactation should be adjusted as indicated by cow response.

Fresh Cow Ration (parturition to ~10-14 days postpartum)

Fresh cows are in a lipolytic state, are at increased risk for metabolic disorders, and feed intake is likely controlled by oxidation of fuels in the liver (Allen *et al.*, 2009). These cows require glucose precursors and rations should contain higher starch concentrations to the extent possible. However, they also have lower rumen digesta mass, which increases risk for ruminal acidosis and displaced abomasum. Highly fermentable starch sources increase fermentation acid production including propionate, which can stimulate oxidation of fuels in the liver, suppressing feed intake (Allen *et al.*, 2009). Therefore, highly fermentable starch sources should be limited during this period which lasts up to two weeks for most cows but even longer for cows with excessive body condition at parturition.

Highly fermentable starch sources such as wheat, barley, low-density steam-flaked corn, and aged (greater than 1 year old) high moisture corn and corn silage, should be limited **to allow greater starch concentrations (and glucose precursors)** with less risk of acidosis or displaced abomasum. Supplementing corn silage based diets with dry ground corn works well for this ration with a total starch concentration of up to 28% (DM basis) depending upon the fermentability of starch in the corn silage. Because feed intake is less limited by ruminal distention during this period, and greater rumen digesta mass is desirable, forage NDF concentration should be greater than 23% and use of non-forage fiber sources should be limited to diluting starch concentration, if necessary. Starch concentrations must be decreased when feeding highly fermentable starch sources.

Early to Mid-Lactation Ration

Cows in early to mid-lactation have high glucose requirement for milk production and partition relatively little energy to body reserves. They respond well to rations with lower forage NDF concentration (low fill) and highly fermentable starch. Starch concentration of rations should be in the range of 25 to 30% (DM basis) although the optimum concentration is dependent upon competition for bunk space, forage/effective NDF concentration, and starch fermentability. Higher starch, lower fill rations generally increase peak milk yield and decrease loss of body condition in early lactation. However, once cows replenish body condition lost in early lactation, they should be switched to a maintenance diet with lower starch concentration and ruminal fermentability.

Maintenance Ration (> 150 DIM and BCS of 3)

The maintenance ration is the key component of a ration formulation/ grouping system to increase health and production of cows. The goal of the maintenance ration is to maintain milk yield and body condition through the rest of lactation. Cows should be offered the maintenance ration when they are regaining BCS and reach a BCS of 3. If they continue receiving a high starch diet, BCS will continue to increase and they will be at increased risk for metabolic disease following parturition. Evidence presented above suggests that they are gaining condition because they are being fed rations with greater starch concentrations needed for their current requirement for milk production, increasing plasma glucose and insulin concentrations. Lowering ration starch concentration should limit body condition gain while maintaining and possibly improving feed intake and yields of milk and milk fat. The optimal concentration of starch is dependent upon the milk yield of the herd and physical groups possible but will likely be in the range of 18 to 22% (DM basis). Starch sources that are high fermentable (high-moisture corn, bakery waste, aged corn silage, etc.) should be avoided. Dried ground corn is an excellent starch source because it has lower ruminal digestibility (~60%) but high total tract digestibility (< 90%). The starch concentration of the maintenance ration should contain adequate, but not excessive forage NDF concentration to maintain DMI, and non-forage fiber sources (beet pulp, corn gluten feed, soyhulls, etc.) can be used to dilute starch to the target concentration. Monitoring BCS at dry-off is essential to adjust the starch concentration of the maintenance diet over time.

CONCLUSIONS

Concentration and ruminal fermentability of starch are highly variable among rations fed to lactating cows and have great effects on feed intake, energy partitioning, milk production, and health. The optimal starch concentration and starch source in rations varies by physiological state of cows, which changes through lactation. Cows should be fed different rations through lactation to maximize use of existing knowledge regarding starch nutrition.

REFERENCES

- Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. J. Anim. Sci. 74:3063-3075.
- Allen, Mike. Corn silage slump hit again this year. Hoard's Dairyman, January 25, 1998.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598-1624.
- Allen, M.S., R. A. Longuski and Y. Ying. 2008. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91(E Suppl):529.
- Allen, M.S. 2011. Mind over models. Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conf., Dept. Dairy Sci., Ohio State University, Columbus, Ohio 43210.
- Allen, M.S., B.J. Bradford, and K.J. Harvatine. 2005. The cow as a model to study food intake regulation. Ann. Rev. Nutr. 25:523-547.
- Allen, M.S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. J. Anim. Sci. 87: 3317-3334.
- Allen, M.S., R. A. Longuski and Y. Ying. 2008. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91(E Suppl):529
- Allen, M. S., R.J. Grant, W. P. Weiss, G. W. Roth, and J. F. Beck. 2003. Effects of endosperm type of corn grain on starch degradability by ruminal microbes *in vitro*. J. Dairy Sci. 86S:61.
- Al-Trad, B., K. Reisberg, T. Wittek, G. B. Penner, A. Alkaassem, G. Gabel, M. Fürll, and J. R. Aschenbach. 2009. Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5645-5658.
- Andersen, J. B., N. C. Friggens, K. Sejrsen, M. T. Sorensen, L. Munksgaard, and K. L. Ingvartsen. 2003. The effects of low vs. high concentrate level in the diet on performance in cows milked two or three times daily in early lactation. Livest. Prod. Sci. 81:119-128.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2004. Milk fat responses to a change in diet fermentability vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2004 87: 3800-3807.
- Bradford, B. J. and M. S. Allen. 2007. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. J. Dairy Sci. 90:3838-3845.
- Dann, H. M., G. A. Varga, and D. E. Putnam. 1999. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 1765-1778.
- Dann, H. M., and B. H. Nelson. 2011. Early lactation diets for dairy cattle – focus on starch. Proc. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Syracuse, NY.
- Dehority, B. A. 1969. Pectin-fermenting bacteria isolated from the bovine rumen. J. Bacteriol. 99:189-196.
- Fickett, F. M. and M. S. Allen. 2002. Ruminal fluid effects on

in vitro digestion kinetics of starch. J. Dairy Sci. 85S:181.

- Firkins, J. L., M. L. Eastridge, N. R. St-Pierre, and S. M. Noftsger. 2001. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. J. Anim. Sci. 79(E. Suppl.):E218–E238.
- Harvatine K. J., J. W. Perfield II, and D. E. Bauman. 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis is upregulated in adipose tissue during CLA-induced milk fat depression in dairy cows. J. Nutr.139: 849-854.
- Hoffman, P. C. and R. D. Shaver. 2010. The nutritional chemistry of dry and high moisture corn. Pp. 179-192. Proc. 10th Western Dairy Management Conference, Department of Animal Science, Kansas State University, Manhattan, KS.
- Hoffman, P. C., D. Ngonyamo-Majee, and R. D. Shaver. 2010. Technical note: Determination of corn hardness in diverse corn germplasm using near-infrared reflectance baseline shift as a measure of grinding resistance. J. Dairy Sci. 93: 1685-1689.
- Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. J. Anim. Sci. 75:852-867.
- 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.
- Kotarski, S. F., R. D. Waniska and K. K. Thurn. 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. J. Nutr. 122:178.
- Mahjoubi, E., H. Amanlou, D. Zahmatkesh, M. Ghelich Khan, and N. Aghaziarati. 2009. Use of beet pulp as a replacement for barley grain to manage body condition score in over-conditioned late lactation cows. Anim. Feed Sci. Tech. 153:60-67.
- Ngonyamo-Majee, D, R.D. Shaver, J.G. Coors, D. Sapienza, J. G. Lauer. 2008. Relationships between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm II. Ruminal and post-ruminal degradabilities. Anim. Feed Sci. Tech. 142:259-274.
- Nocek, J. E., and S. Tamminga. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk and composition. J. Dairy Sci. 74:3598.
- Oba, M. 2011. Review: Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 91:37-46.
- Oba, M., and M. S. Allen. 2000a. 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.
- Oba, M., and M. S. Allen. 2000b. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 3. Digestibility and microbial efficiency. J. Dairy Sci. 83:1350-1358.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003a. Effects of corn grain conservation method on ruminal digestion kinetics for lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. J. Dairy Sci. 86:184-194.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003b. Effects of diet fermentability on efficiency of microbial nitrogen production in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:195-207.
- Patton, R. A., J. R. Patton, and S. E. Boucher. 2012. Defining ruminal and total-tract starch degradation for adult dairy cattle using *in vivo* data. J. Dairy Sci. 95:765-782.
- Phillipeau, C. and B. Michalet-Doreau, 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. Anim. Feed Sci. Technol. 68:25-35.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 2005. Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 88:4375–4383.
- Reynolds, C. K., P. C. Aikman, B. Lupoli, D. J. Humphries, and D. E. Beever. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J Dairy Sci. 86:1201-1217.
- Russell, J. B., and G. M. Cook. 1995. Energetics of bacterial growth: balance of anabolic and catabolic reactions. Microbiol. Rev. 59:48-63.
- Sadri, H., G. R. Ghorbani, H. R. Rahmani, A. H. Samie, M. Khorvash, and R. M. Bruckmaier. 2009. Chromium supplementation and substitution of barley grain with corn: effects on performance and lactation in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 92:5411-5418.
- Sutton, J. D., M. S. Dhanoa, S. V. Morant, J. France, D. J. Napper, and E. Schuller. 2003. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. J. Dairy Sci. 86:3620-3633.
- Taylor, C. C. and M. S. Allen. 2005. Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: site of digestion and ruminal digestion kinetics in lactating cows. J. Dairy Sci. 88:1413-1424.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003a. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake, chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3542-3552.
- Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003b. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 2. Effects on digestion and ruminal digestion kinetics in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3553-3561.
- Voelker, J. A., G. M. Burato, and M. S. Allen. 2002. Effects of pretrial milk yield on responses of feed intake, digestion, and production to dietary forage concentration. J. Dairy Sci. 85:2650-2661.
- Ying, Y. and M. S. Allen. 2005. Effects of corn grain endosperm type and conservation method on site of digestion, ruminal digestion kinetics and microbial nitrogen production in lactating cows. J. Dairy Sci. 88S:393.

EXPLORANDO EL POTENCIAL DE HERRAMIENTAS DE LECHERÍA DE PRECISIÓN

Dr. Jeffrey Bewley

Administrador de Soporte BoviSync, Jbewley@bovisync.com
Consultor, Alojamiento enfocado a las vacas, Jbewley@cowfocused.com

CLAVES

- La Producción Lechera de Precisión es el uso de tecnologías para medir, los indicadores de comportamiento y de producción en animales individuales para mejorar las estrategias de gestión y el rendimiento de la granja.
- Muchas de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión, incluyendo el registro de los datos de leche diarios, la monitorización de componentes lácteos, podómetros, dispositivos de grabación automática de temperatura, indicadores de conductividad de leche, monitores de detección automática de estro y mediciones de peso corporal diario, ya están siendo utilizadas por los productores lecheros.
- Otras tecnologías de Producción Lechera de Precisión teóricas se han propuesto para medir los movimientos de la mandíbula, el pH ruminal, las contracciones reticulares, la frecuencia cardíaca, la colocación de animales y la actividad, la resistencia eléctrica de la mucosa vaginal, el comportamiento alimenticio, al tumbarse, el olor, el comportamiento de la glucosa, la acústica, la progesterona, los componentes individuales de la leche, de color (como un indicador de limpieza), los infrarrojos de las temperaturas de la superficie de la ubre, y las tasas de respiración.
- Los principales objetivos de la Producción Lechera de Precisión son maximizar el potencial individual de los animales, la detección temprana de la enfermedad, y minimizar el uso de los medicamentos a través de medidas de salud preventivas.
- Los beneficios percibidos de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión incluyen el aumento de la eficiencia, reducción de costes, mejora de la calidad del producto, minimiza los impactos ambientales adversos, y mejora de la salud y bienestar de los animales.
- Datos en tiempo real utilizados para monitorizar los animales pueden ser incorporados a sistemas de apoyo para la toma de decisiones destinadas a facilitar la toma de decisiones sobre cuestiones que requieren la recopilación de múltiples fuentes de datos.
- Las tecnologías para la monitorización fisiológica de las vacas lecheras tienen un gran potencial para complementar las actividades de observación de especialistas de rebaños calificados, que es especialmente crítica cuantas más vacas sean gestionadas por menos trabajadores cualificados.
- Se deben examinar más las consecuencias económicas de la adopción de la tecnología para incrementar las tasas de adopción de tecnologías de Producción Lechera de Precisión.

INTRODUCCIÓN

En todo el mundo continúa la tendencia de un menor número de operaciones lácteas más grandes. Las operaciones lecheras hoy se caracterizan por tener menores márgenes de beneficio que en el pasado, principalmente debido a la reducción de la intervención gubernamental en la regulación de los precios de los productos básicos agrícolas. Por lo tanto, pequeños cambios en la producción o la eficiencia pueden tener un gran impacto en la rentabilidad. El crecimiento de la competencia resultante ha intensificado el impulso a la eficiencia, lo que ha incrementado el énfasis en la gestión empresarial y financiera. Además, la toma de decisiones horizontal para un gestor de productos lácteos ha cambiado dramáticamente, con mayor énfasis en la protección de los consumidores, el aseguramiento de la calidad continua, alimentos naturales, de alimentos libres de patógenos, la transmisión de enfermedades zoonóticas, reducción del uso de los tratamientos médicos, y una mayor preocupación por el cuidado de los animales. Estos cambios demográficos reflejan un cambio permanente en la forma en que se administran las operaciones lecheras. En gran parte, muchos de estos cambios pueden atribuirse a un enorme progreso tecnológico en todas las facetas de la producción lechera, incluida la genética, nutrición, reproducción, control de enfermedades y gestión. W. Nelson Philpot (2003) capturó este cambio efectivamente en la descripción de las explotaciones lecheras modernas como "maravillas tecnológicas". Posiblemente, la próxima "maravilla tecnológica" en el sector de los productos lácteos pueden estar en la Producción Lechera de Precisión.

¿Qué es la Producción Lechera de Precisión?

La Producción Lechera de Precisión es el uso de tecnologías para medir los indicadores fisiológicos, de comportamiento y de producción en animales individuales para mejorar las estrategias de gestión y el rendimiento de la granja. Muchas de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión, incluyendo el registro de los datos de leche diarios, la monitorización de los componentes lácteos (p.ej. Grasa, proteína, y SCC), podómetros, dispositivos de grabación automática de temperatura, indicadores de conductividad de leche, monitores de detección automática de estro y mediciones de peso corporal diario, ya están siendo utilizadas por los productores lecheros. Eastwood *et al.* (2004) La Producción Lechera de Precisión definida como "el uso de las tecnologías de la información para la evaluación de los animales a escala fina y la variabilidad de recursos físicos destinados a la mejora de las estrategias de gestión para la optimización económica, social y medioambiental del rendimiento agrícola". Spilke y Fahr (2003) declararon que la Producción Lechera de Precisión, con especial énfasis en tecnologías para el control de los animales individuales, "aspira a una producción ecológica y económicamente sostenible de leche con calidad garantizada, así como un alto grado de protección de los consumidores y de los animales ". En la Producción Lechera de Precisión, la tendencia hacia la gestión de grupos podría invertirse volviendo a centrarse en vacas individuales mediante el uso de tecnologías (Schulze *et al.*, 2007). Las tecnologías incluidas dentro de la Producción Lechera de Precisión varían en complejidad desde recogida de datos de la leche para medición de atributos específicos (por ejemplo, contenido de grasa o progesterona) dentro de la leche en cada ordeño. Los principales objetivos de la Producción

Lechera de Precisión son maximizar el potencial individual de los animales, la detección temprana de la enfermedad, y minimizar el uso de los medicamentos a través de medidas de salud preventivas. La Producción Lechera de Precisión es inherentemente un campo interdisciplinario que incorpora la informática, la bioestadística, la etología, la economía, la reproducción animal, la cría de animales, la nutrición animal, y la ingeniería (Spilke y Fahr, 2003).

Los beneficios potenciales de la Producción Lechera de Precisión

Los beneficios percibidos de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión incluyen el aumento de la eficiencia, reducción de costes, mejora de la calidad del producto, minimiza los impactos ambientales adversos, y mejora de la salud y bienestar de los animales. Es probable que estas tecnologías van a tener mayor impacto en las áreas de salud, reproducción y control de calidad (de Mol, 2000). Se prevé que los beneficios obtenidos a partir de los datos de resumen de informe de excepciones y que será mayor para los rebaños más grandes, donde la observación de los animales individuales es más difícil y es menos probable que suceda (Lazarus *et al.*, 1990). Las tecnologías de Producción Lechera de Precisión son más viables a medida que las operaciones continúan a aumentar en tamaño, debido a una mayor dependencia de trabajo menos especializado y la habilidad de sacar partido de la adopción de tecnologías relacionadas con la economía.

La tecnología de Producción Lechera de Precisión permite a los productores lecheros tomar más decisiones informadas y oportunas, que tienen como resultado una mejor productividad y rentabilidad (van Asseldonk *et al.*, 1999b). En muchos casos se pueden utilizar datos a tiempo real pueden ser utilizados para controlar los animales y crear informes de excepción para identificar desviaciones significativas. En muchos casos, las actividades de control y gestión de productos lácteos pueden ser automatizado (Delorenzo and Thomas, 1996). Como alternativa, la salida del sistema puede proporcionar una recomendación para que la interprete el administrador (Pietersma *et al.*, 1998). La información obtenida de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión sólo es útil si es interpretada y utilizada eficazmente en la toma de decisiones. Los sistemas integrados, e informatizados son esenciales para interpretar las cantidades masivas de datos obtenidas de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión. Datos en tiempo real utilizados para controlar los animales que pueden ser incorporados a sistemas de apoyo para la toma de decisiones destinadas a facilitar la toma de decisiones sobre cuestiones que requieren la recopilación de múltiples fuentes de datos.

Históricamente, los productores lecheros han utilizado la experiencia y el criterio para identificar animales periféricos. Aunque esta habilidad es invaluable y nunca puede ser totalmente reemplazada con tecnologías automatizadas, es inherentemente defectuoso por las limitaciones de la percepción humana de las condiciones de la vacas. A menudo, en el momento en que un animal presenta signos clínicos de estrés o enfermedad, es demasiado tarde para intervenir. Estos síntomas clínicos fácilmente observables son precedidos típicamente por las respuestas fisiológicas no evidentes al ojo humano (p.ej. cambios en temperatura o frecuencia cardíaca). Por lo tanto, un gestor de productos lácteos puede intervenir antes mediante la identificación de cambios en los parámetros fisiológicos. Las tecnologías para la monitorización fisiológica de las vacas lecheras tienen un gran potencial para complementar las actividades de observación de especialistas de rebaños calificados, que es especialmente crítica cuantas más vacas sean gestionadas por menos trabajadores cualificados (Hamrita *et al.*, 1997).

Ejemplos de la Producción Lechera de Precisión

La lista de tecnologías de la Producción Lechera de Precisión utilizadas para controlar y supervisar el estado de los animales sigue creciendo. Debido al rápido desarrollo de nuevas tecnologías y aplicaciones auxiliares, las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión se están haciendo cada vez más factibles. Muchas de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión, incluyendo el registro de los datos de leche diarios, la monitorización de los componentes lácteos (p.ej grasa, proteína, y SCC), podómetros, dispositivos de grabación automática de temperatura, indicadores de conductividad de leche, monitores de detección automática de estro y mediciones de peso corporal diario, ya están siendo utilizadas por los productores lecheros. A pesar de su carácter aparentemente simplista, la potencia exacta de los pesos de leche no deben ser descontados en la vigilancia de las vacas, ya que normalmente es el primer factor que cambia cuando se desarrolla un problema (Philpot, 2003). Otras tecnologías teóricas de Producción Lechera de Precisión se han propuesto para medir los movimientos de la mandíbula, el pH ruminal, las contracciones reticulares, la frecuencia cardíaca, la colocación de animales y la actividad, la resistencia eléctrica de la mucosa vaginal, el comportamiento alimenticio, al tumbarse, el olor, el comportamiento de la glucosa, la acústica, la progesterona, los componentes individuales de la leche, el color (como un indicador de limpieza), los infrarrojos de las temperaturas de la superficie de la ubre, y las tasas de respiración. Por desgracia, el desarrollo de tecnologías tiende a ser impulsado por la disponibilidad de una tecnología, transferida de otras industrias en los esfuerzos de expansión de mercado, más que por necesidad. Respecto a algunas industrias, la industria lechera es relativamente pequeña, limitando la voluntad de inversión corporativa ampliamente en el desarrollo de tecnologías exclusivas de las explotaciones lecheras. Las tecnologías de las Producción Lechera de Precisión miden variables que pueden ser medidas de forma manual, mientras que otros miden variables que no podrían haber sido obtenidas anteriormente.

Análisis de inversiones en tecnologías de Producción Lechera de Precisión

El gerente de una granja lechera actual se encuentra con un flujo constante de nuevas tecnologías para tener en cuenta, incluidas las nuevas tecnologías de Producción Lechera de Precisión. Galligan y Groenendaal (2001) sugirieron que “el productor lechero moderno puede ser visto como un gestor de una cartera de inversión, donde las diversas oportunidades de inversión (productos, las intervenciones de gestión) debe ser seleccionadas y combinadas de manera que proporcionen un beneficio a un riesgo competitivo para otras oportunidades”. Además, los gerentes de productos lácteos deben considerar simultáneamente las consideraciones biológicas y económicas en sus decisiones. Tradicionalmente, las decisiones de las inversiones se han realizado utilizando las recomendaciones normales, reglas de oro, el consejo del consultor o de la intuición. Por lo tanto, los métodos más objetivos de análisis de inversiones son necesarios (Verstegen *et al.*, 1995).

La aprobación de las herramientas de toma de decisiones en-granja sofisticadas ha sido escasa en la industria láctea en este punto. Sin embargo, la industria de productos lácteos sigue siendo una perfecta aplicación de la decisión la ciencia porque: (1) se caracteriza por un precio considerable, el clima, la

variación biológica y la incertidumbre, (2) las tecnologías, tales como las características de la Producción Lechera de Precisión, diseñadas para recoger datos para la toma de decisiones, y (3) la producción principal, la leche líquida, es difícil de diferenciar. Esto aumenta la necesidad de contar con medios alternativos de diferenciación empresarial. En "Competir en Analítica: La nueva ciencia de ganar", Davenport y Harris (2007) plantea que en industrias con tecnologías y productos similares, los procesos de negocio de "alto rendimiento" son una de las únicas formas en que las empresas pueden diferenciarse de los demás.

Los Análisis de inversión de los sistemas y las tecnologías de información son comunes dentro de la literatura general de negocios (Bannister and Remenyi, 2000, Lee y Bose, 2002, Ryan y Harrison, 2000, Streeter and Hornbaker, 1993). Sin embargo, las herramientas específicas de los productos lácteos que examinan la inversión de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión son limitadas (Carmi, 1992, Gelb, 1996, van Asseldonk, 1999), aunque la inversión en tecnologías de análisis de otros productos lácteos abundan (Hyde and Engel, 2002). Las comparaciones empíricas de tecnología antes o después de la adopción o entre los rebaños que han adoptado una tecnología y controlan los rebaños que no lo han hecho son caras y parciales, posiblemente por otras diferencias relacionadas con el rebaño. Como resultado, el enfoque normativo, utilizando modelos de simulación, predomina en los modelos de apoyo a la toma de decisiones en la agricultura animal (Dijkhuizen *et al.*, 1991). La inversión en nuevas tecnologías agrícolas es demasiado a menudo una ardua y compleja tarea. En primer lugar, el enfoque estándar utilizando el valor actual neto es a menudo engañoso, porque a menudo no tienen en cuenta adecuadamente las incertidumbres subyacentes. Segundo, el aumento de los costos y beneficios de las nuevas tecnologías requieren interacciones complejas de múltiples variables que a menudo son no lineales ni intuitivas. Las complejidades que rodean la inversión en las tecnologías de Producción Lechera de Precisión son un ejemplo de este tipo de decisiones complejas.

Ward (1990) enumeró tres beneficios para la inversión en tecnología: 1) sustitutiva, sustitución de la fuerza humana por la máquina, 2) complementarios, mejorando la productividad y la eficacia de los empleados a través de nuevas formas de realizar las tareas, y 3) innovando, obteniendo una ventaja competitiva. Además de los impactos sobre la producción, muchas tecnologías también pueden cambiar la composición de la leche, la eficiencia reproductiva y la incidencia de la enfermedad (Galligan and Groenendaal, 2001). En un análisis de una oportunidad de inversión en la industria láctea, los flujos de efectivo son generalmente inciertos debido a la variabilidad biológica o un conocimiento incompleto del sistema (Galligan and Groenendaal, 2001). El impacto que una tecnología de Producción Lechera de Precisión tiene en el rendimiento productivo y económico es difícil de examinar debido a la naturaleza cambiante del entorno de decisión donde las inversiones son a menudo inversiones únicas pero los rendimientos se acumulan durante un período de tiempo más largo (van Asseldonk, 1999, van Asseldonk *et al.*, 1999a, van Asseldonk *et al.*, 1999b, Verstegen *et al.*, 1995, Ward, 1990). Además, los flujos de beneficios resultantes de la inversión en tecnología de la Producción Lechera de Precisión dependen en gran medida de la capacidad del usuario para comprender y utilizar la información proporcionada por la nueva tecnología (Bannister and Remenyi, 2000). Un análisis económico del valor de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión requiere tener en cuenta el efecto de la adopción tanto en la calidad y la oportunidad de las decisiones (Verstegen *et al.*, 1995). Las mejoras asociadas con la adopción de nuevas tecnologías de Producción Lechera de Precisión pueden aumentar las ganancias directamente a través de una mejor utilización de los datos proporcionados por la tecnología, o indirectamente a través de recomendaciones de consultores utilizando la información nueva (Tomaszewski *et al.*, 1997). Es difícil, si no imposible cuantificar el valor económico de bienestar personal asociado con una propuesta de cambio (por ejemplo, tiempo libre o de prestigio) (Otte and Chilonda, 2000). Por ejemplo, es casi imposible cuantificar la satisfacción de tener un rebaño sano, la reducción del sufrimiento de los animales, la reducción de los riesgos para la salud humana, y la mejora del medio ambiente (Huirne *et al.*, 2003). A pesar de los esfuerzos para formalizar el análisis racional de la toma de decisiones de inversión en tecnologías de la información, muchos ejecutivos finalmente toman decisiones sobre inversión basándose en "corazonadas" o "actos de fe" (Bannister and Remenyi, 2000, Passam *et al.*, 2003, Silk, 1990). En última instancia, la toma de decisiones es y debería ser dependiente de ambos análisis racional y el instintivo (Bannister and Remenyi, 2000).

Simulación de explotaciones lecheras

Mayer *et al.* (1998) Propuso que con la variedad de problemas de gestión a los que se enfrenta un gerente de lácteos en un entorno de cambio constante (por ejemplo, ambiental, financiero y biológico), no se pueden verificar y validar las mejores estrategias gestión con experimentos de campo. Como resultado de ello, la simulación es el único método de "integración y evaluación" de estos efectos (Mayer *et al.*, 1998). Las simulaciones son modelos matemáticos diseñados para representar un sistema, como una granja de productos lácteos, para su uso en la toma de decisiones. Los modelos de simulación son útiles y rentables en investigaciones que exigen los escenarios complejos que implican un gran número de variables con grandes grupos de animales durante un largo período de tiempo y en una gran variedad de condiciones (Bethard, 1997, Shalloo *et al.*, 2004). Las principales ventajas de usar modelos matemáticos de simulación por ordenador en la evaluación de problemas de producción lechera son la capacidad de controlar las variables dentro del modelo de las que se consiguen con una prueba de campo y la reducción de costes asociados con este tipo de esfuerzo (Shalloo *et al.*, 2004, Skidmore, 1990). Estos modelos económicos también pueden ser útiles en la evaluación de alternativas, donde aún está disponible poca cantidad de datos (Dijkhuizen *et al.*, 1995). La simulación de un sistema es especialmente útil cuando existen bucles de retroalimentación complejos e inciertos(p. ej. la enfermedad afecta la producción que luego impacta otras variables más adelante en el sistema) (Dijkhuizen *et al.*, 1995). Los modelos que representan la incertidumbre del sistema, al tiempo que utilizan la información disponible, proporcionan una perspectiva más realista que los modelos que no considerar una gama de respuestas (Bennett, 1992, Passam *et al.*, 2003).

Se prefiere la simulación u otros métodos sistémicos u otros métodos para capturar la complejidad de un sistema lechero ya que pueden evaluar varios factores biológicos y económicos que afectan al rendimiento, incluyendo la gestión, alimentación, cría, sacrificio, y la enfermedad (Skidmore, 1990, Sorensen *et al.*, 1992). Debido a que el sistema lechero incluye aspectos medioambientales, económicos y físicos, es esencial tener en cuenta las interacciones entre los componentes y hacer un seguimiento de los efectos de una intervención a través de todo el sistema(Cabrera *et al.*, 2005). Los modelos de simulación

son ideales para el análisis de estrategias de inversión, porque efectivamente pueden examinar la mejora en los parámetros biológicos basados en datos específicos de la granja, en lugar de los promedios simples del sector (Delorenzo and Thomas, 1996, Dijkhuizen *et al.*, 1995, Gabler *et al.*, 2000, Jalvingh, 1992, van Asseldonk *et al.*, 1999b). La simulación de una granja se puede lograr mediante la realización de dos simulacros, uno con y uno sin un cambio de intervención propuesto y luego se comparan estas simulaciones para examinar el impacto sobre parámetros económicos o biológicos de interés (van Asseldonk, 1999). El resultado de una serie de simulaciones ofrece una amplia gama de resultados que describen de una forma más realista la variabilidad biológica de los modelos simples (Marsh *et al.*, 1987).

El riesgo y la incertidumbre son consideraciones importantes dentro de un sistema de producción láctea debido al carácter aleatorio de la producción de leche, la biología, las enfermedades, el clima, los costes de los insumos y los precios de la leche (Delorenzo and Thomas, 1996). Este riesgo e incertidumbre representa una porción importante de la dificultad y la complejidad de gestionar una operación lechera (Huirne, 1990). La incertidumbre debe ser considerada en la toma de decisiones, a fin de evitar estimaciones parciales y decisiones erróneas (Kristensen y Jorgensen, 1998). Los costes y los retornos futuros son siempre son inciertos (Lien, 2003). Dentro de la agricultura de precisión, la representación exacta de los riesgos asociados con la adopción de la tecnología es fundamental en el proceso de toma de decisiones (Marra *et al.*, 2003).

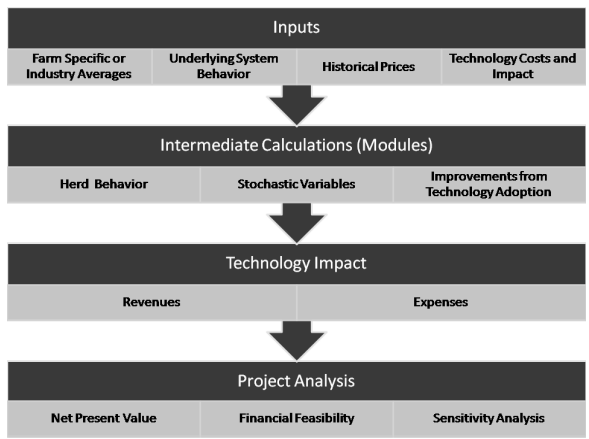
Cuando los gerentes no cuentan con información suficiente para evaluar el riesgo de los resultados de decisiones, usan probabilidades subjetivas basadas en experiencias pasadas y en su propio juicio (Huirne, 1990). En la mayoría de los casos, los responsables de la toma de decisiones se preocupan principalmente por las posibilidades de que los rendimientos obtenidos a partir de una inversión sean menores de lo previsto (Galligan *et al.*, 1987). La capacidad de un modelo para reflejar las condiciones del mundo real aumenta con la consideración de más variables (Jalvingh, 1992). No obstante, para garantizar que el modelo sigue siendo práctico y razonable, sólo las variables con mayor influencia en el resultado final deseado deben introducirse en el modelo como aleatorio (Jalvingh, 1992, Lien, 2003).

Modelo de investigación Purdue/Kentucky

Bewley *et al.* (2010b) desarrolló un modelo de simulación de una granja lechera para evaluar las inversiones en tecnologías de la Producción Lechera de Precisión mediante el examen de una serie de procesos aleatorios a lo largo de un período de diez años. El modelo fue diseñado para caracterizar la complejidad biológica y económica de un sistema lechero dentro de un marco presupuestario parcial mediante el examen de los flujos de costos y beneficios, coincidiendo con la inversión en tecnología de Producción Lechera de Precisión. Aunque el modelo actualmente sólo existe en una forma de investigación, un objetivo secundario fue desarrollar el modelo en forma que conduzca a la utilidad futura como una herramienta de toma de decisión flexible, específica de la granja-herramienta de decisión específico. El modelo básico se hizo en Microsoft Excel 2007 (Microsoft, Seattle, WA). El @Risk 5.0 (Palisade Corporation, Ithaca, NY) Complemento para Excel se utilizó para dar cuenta de la naturaleza aleatoria de las variables clave en una simulación de Monte Carlo. En la simulación de Monte Carlo los dibujos aleatorios son extraídos de las distribuciones de múltiples variables aleatorias sobre interacciones repetidas de un modelo para representar el impacto de diferentes combinaciones de estas variables en las métricas financieras o de producción (Kristensen y Jorgensen, 1998).

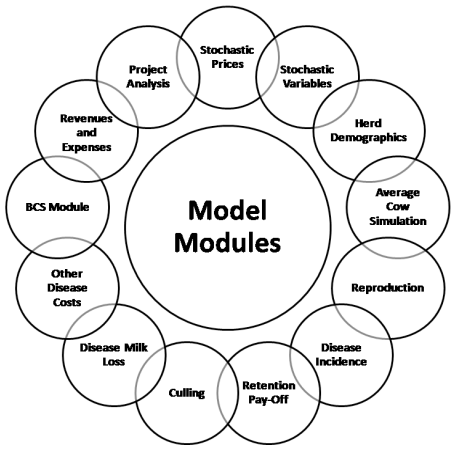
La estructura básica del modelo se muestra en la figura 1. El comportamiento subyacente del sistema lechero estuvo representado con el conocimiento actual de la gestión del rebaño y la vaca con relaciones definidas a partir de la bibliografía existente. También se incorporaron precios históricos para las fuentes críticas de ingresos y gastos dentro del sistema como modelo los insumos. La flexibilidad de este modelo radica en la capacidad para cambiar entradas describiendo las características del rebaño inicial y el impacto potencial de la tecnología. Los usuarios individuales pueden cambiar estas entradas para que coincida con las condiciones observadas en una determinada granja.

Figura 1. Diagrama que muestra el flujo general de información dentro del modelo



Después de introducir los datos en el modelo, se calculan en 13 módulos una extensa serie de cálculos intermedios, cada uno en una hoja de cálculo independiente dentro de la hoja de cálculo de Excel. Cada módulo controla los cambios durante un período de 10 años para sus respectivas variables. Dentro de estos módulos conectados entre sí (Figura 2), el impacto de las entradas, las variables aleatorias, y las mejoras inducidas por la tecnología se estiman a lo largo del tiempo utilizando el sistema subyacente en el comportamiento dentro del modelo. Los resultados de los cálculos dentro de 1 módulo a menudo afectan a los cálculos de otros módulos con múltiples interdependencias de avance y retroalimentación. Cada uno de estos módulos eventualmente resulta en un cálculo que influirá en el coste y los flujos de ingresos necesarios para el análisis parcial del presupuesto. Por último, los costes y los ingresos se utilizan para el análisis de proyectos examinando el valor actual neto (**NPV**) y la viabilidad financiera del proyecto, junto con el análisis de sensibilidad.

Figura 2. Diagrama de módulos modelo



Los mercados de productos básicos agrícolas se caracterizan por una enorme volatilidad y, en muchos países, esta volatilidad aumenta con la reducción de la regulación de precios gubernamentales. Como resultado, las condiciones económicas y en la rentabilidad de las inversiones pueden variar considerablemente en función de los precios pagados por los insumos y los precios recibidos por los productos. Los productores son a menudo críticos con análisis económicos que no tienen en cuenta esta volatilidad, utilizando un solo valor para precios críticos, reconociendo que los resultados de los análisis pueden ser diferentes, con precios de la leche superiores e inferiores, por ejemplo. En un modelo de simulación, la variabilidad de los precios puede ser explicada considerando la variación aleatoria de estas variables. En este modelo, los precios estadounidenses históricos desde 1971 a 2006 para la leche, las novillas de reemplazo, alfalfa, maíz y soja se obtuvieron de la página web "Comprensión de los mercados lácteos" (Gould, 2007). Los precios históricos de la vaca de sacrificio se definieron utilizando los valores estadísticos del USDA-Servicio Nacional de Estadísticas Agrícolas para "vacas de carne y las vacas lecheras vendidas para ser sacrificadas" (USDA-NASS, 2007). Los valores base para los precios futuros (2007 a 2016) de leche, maíz, soja, alfalfa y vacas sacrificadas fueron establecidos utilizando estimaciones del Instituto de Investigación política alimentaria y agrícola (**FAPRI**) de EE.UU y del informe Perspectivas Agrícolas a nivel mundial (FAPRI, 2007). La variación de los precios fue considerado dentro de la simulación basándose en la variación histórica. De esta forma, la volatilidad de los precios clave puede ser considerada dentro de un análisis de rentabilidad.

Aunque probablemente no hay una forma directa para dar cuenta de las muchas decisiones que, en última instancia, impactan la rentabilidad de una inversión en la tecnología de Producción Lechera de Precisión, este modelo incluye un Factor de Adherencia a la Mejor Práctica de Gestión (**BMPAF**) para representar el potencial de observar el máximo beneficio de la adopción de una tecnología. La BMPAF es una escala cruda del 1 al 100% diseñada para representar el nivel de la administración de la finca. Con un valor del 100%, se supone que la administración de la finca es capaz y es probable que utilice la tecnología en todo su potencial. En consecuencia, se podría observar el máximo beneficio de la tecnología. En el otro extremo del espectro, un valor de 0% representa un escenario donde la gestión de la granja instala una tecnología sin cambiar de gestión para integrar los nuevos datos disponibles en los esfuerzos para mejorar el rendimiento del rebaño. En este caso, la granja no reconocería ninguno de los beneficios de la tecnología. Quizás lo más importante, los análisis de sensibilidad permiten al usuario final evaluar la decisión con el conocimiento de la función que desempeñan en su éxito.

Análisis de Inversiones de Calificación de Condición Corporal Automatizada

Para mostrar cómo puede se puede utilizar de una manera práctica, este modelo fue utilizado para un análisis de inversión automática de las calificaciones de condición corporal en las granjas lecheras (Bewley *et al.*, 2010a). Se ha demostrado que la calificación de condición corporal automatizada (**BCS**) a través de la extracción de información de imágenes digitales es factible; y se están desarrollando tecnologías comerciales (Bewley *et al.*, 2008). El objetivo principal de esta investigación fue identificar los factores que influyen en la rentabilidad potencial de invertir en un sistema automatizado de BCS. Se realizó una encuesta de opinión de expertos para proporcionar estimaciones para mejoras potenciales asociadas con la adopción de la tecnología. Las ventajas de la adopción de la tecnología fueron calculadas mediante la evaluación de las repercusiones del BCS en la incidencia de la cetosis, fiebre de la leche y la metritis, tasa de concepción al primer servicio, y la eficiencia energética. Para este ejemplo de investigación, se utilizaron los promedios de la industria para la producción y los parámetros financieros, seleccionadas para representar las condiciones para una granja de productos lácteos de EE.UU. de 1000 vacas de ordeño en 2007. Se pueden obtener más detalles del modelo entradas y supuestos del autor.

El valor actual neto (**NPV**) fue la métrica empleada para valorar la rentabilidad de la inversión. La tasa de descuento predeterminada del 8% fue ajustada a 10% debido a que esta tecnología no ha sido comercializada comercialmente; por lo tanto, el riesgo de adoptadores tempranos de la tecnología es superior. La tasa de descuento explica parcialmente las cuentas de este aumento de riesgo exigiendo mayor rentabilidad de la inversión. La regla general es que una decisión con un VAN mayor que 0 es una decisión "válida" y una inversión rentable para la empresa. La inversión al comienzo del proyecto incluye el coste de adquisición de los equipos necesarios para el funcionamiento del sistema además de cualquier otro coste de instalación o compra necesario para iniciar el sistema. Reconociendo que un modelo más sencillo ignora la incertidumbre inherente a un sistema lechero, la simulación de Monte Carlo se realizó utilizando el complemento @Risk add-in. Este tipo de simulación proporciona infinitas oportunidades para análisis de sensibilidad. Se ejecutaron las simulaciones utilizando 1000 interacciones en cada simulación. Se ejecutaron las simulaciones, utilizando estimaciones facilitadas por expertos, para escenarios con poca o ninguna mejora en la distribución de BCS y con una mejoría definitiva.

Análisis de Rentabilidad

Para la pequeña probabilidad de mejora la simulación, el 13,1% de interacciones de simulación dieron como resultado un VAN positivo, mientras que este mismo número fue de 87,8% para el escenario con una clara mejora. En otras palabras, utilizando el modelo de hipótesis para una media de 1.000 vacas lecheras de EE.UU. en 2007, la inversión en un sistema automatizado BCS fue la decisión correcta en 13,1% a 87,8% del tiempo en función de la hipótesis de lo que sucedería con la distribución del BCS después de la adopción de la tecnología. El nivel de aversión al riesgo del tomador de decisiones individuales determinará entonces si deben hacer la inversión. Aunque esto sirve como un ejemplo de cómo este modelo podría ser usado por una persona responsable de la toma de decisiones,

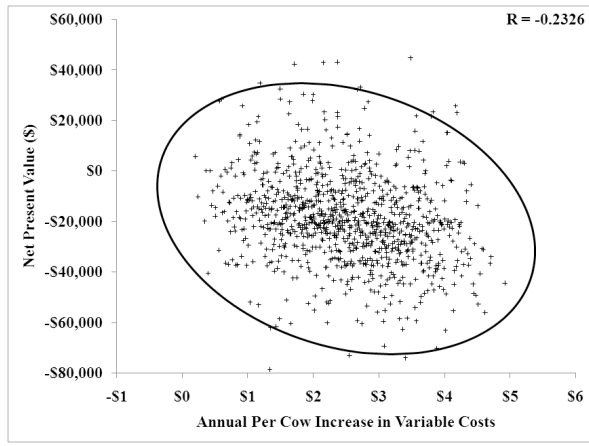
este análisis de rentabilidad no debe tomarse literalmente. En realidad, un productor lechero individual tendría que contemplar esta decisión utilizando variables específicas del rebaño para evaluar el potencial de inversión de la tecnología. El principal mensaje fue que debido a que los resultados de los análisis de las inversiones fueron muy variables, esta tecnología no es ciertamente una tecnología "talla única" que sería beneficiosa para todos los productores lecheros.

Análisis de Sensibilidad

El objetivo principal de esta investigación era lograr una mejor comprensión de los factores que influyen en la rentabilidad de la inversión en un sistema automatizado de BCS a través de análisis de sensibilidad. El análisis de sensibilidad, diseñado para evaluar la gama de posibles respuestas, proporciona una mayor comprensión del análisis de inversión (van Asseldonk *et al.*, 1999b). En los análisis de sensibilidad, los diagramas de tornado retratan visualmente el efecto de cualquiera de las entradas o variables aleatorias en un resultado de interés. En un diagrama de tornado, las longitudes de las barras son representativas de la sensibilidad de salida para cada entrada. El diagrama de tornado se organiza con la entrada más sensible en la parte superior progresando hacia la entrada menos sensible en la parte inferior. De esta manera, es fácil ver y comparar la importancia relativa de los insumos a los resultados finales de la modelo.

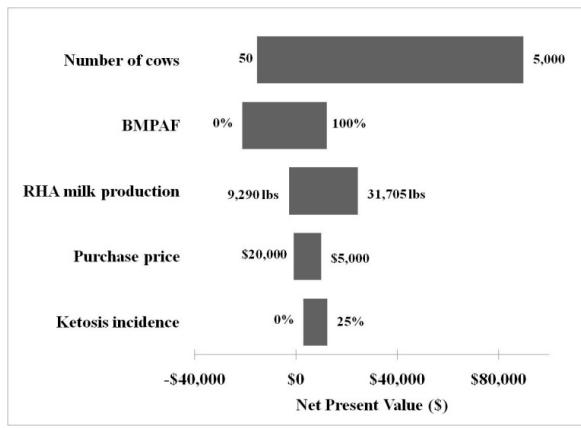
Las mejoras en el desempeño reproductivo tuvieron la mayor influencia sobre los ingresos, seguido por la eficiencia energética y, a continuación, por la reducción de las enfermedades. Las variables Aleatorias que tuvieron la mayor influencia sobre el VAN fueron las siguientes: el coste variable aumenta después de la adopción de la tecnología; los resultados extraños para la incidencia de fiebre de leche y cetosis e índices de concepción al primer servicio asociados con diferentes rangos de BCS; la incertidumbre del impacto de la cetosis, la fiebre de leche y la metritis en días abiertos, la leche no conseguida, los gastos veterinarios, la mano de obra, y la leche desechada; y el cambio en el porcentaje de las vacas con CC al parto ≤ 3,25 antes y después de la adopción de la tecnología. Los diagramas de dispersión de las variables aleatorias más sensibles representadas contra el VAN junto a los coeficientes de correlación demuestran como las variables aleatorias afectan a la rentabilidad. En ambas simulaciones, la variable aleatoria que tuvo el mayor relación con VAN fue el aumento de costo variable. Como era de esperar, a medida que aumentaron los costes variables por vaca disminuyó el VAN en ambas simulaciones (Figura 3). Así, el valor de un sistema automatizado de BCS dependía en gran medida de los costes incurridos para utilizar la información proporcionada por el sistema para modificar la gestión nutricional para mejorar los perfiles de BCS.

Figura 3. Diagrama de dispersión del valor neto actual versus el porcentaje de crecimiento anual de los costes variables (para la simulación, utilizando todos los dictámenes periciales siempre)



Finalmente, los resultados de cualquier modelo de simulación son altamente dependientes de los supuestos del modelo. Un diagrama tornado de análisis de sensibilidad unilateral compara variables múltiples en el mismo gráfico. Esencialmente, cada entrada es variada (1 a la vez) entre valores factibles altos y bajos y el modelo es evaluado por la salida a esos niveles manteniendo todas las demás entradas en sus niveles predeterminados. En el diagrama de tornado, para cada entrada, el valor inferior se traza en el extremo izquierdo de la barra y el valor más alto en el extremo derecho de la barra (Clemen, 1996). Se realizaron simulaciones para posibles valores altos y bajos para 6 entradas clave que pueden afectar el VAN. El diagrama de tornado para el percentil 95 VAN desde la simulación con una pequeña probabilidad de mejora en la distribución de BCS se presenta en la figura 4. El tamaño del rebaño tuvo la mayor influencia en el VAN. El VAN fue mayor para el rebaño más grande porque los costes de inversión y los beneficios se distribuyeron entre más vacas.

Figura 4. Diagramas de tornado de insumos afecta a 95 percentil del valor actual neto para simulaciones utilizando las estimaciones de todos los participantes de la encuesta[1]



El [1] BMPAF es el mejor factor de adherencia en las Mejores Prácticas de Gestión, la producción de leche RHA está aumentando el promedio de producción de leche en libras.

La siguiente variable más importante fue la BMPAF. De nuevo, este resultado no es sorprendente y reitera que uno de los factores más determinantes del éxito del proyecto fue lo que realmente hace el productor para gestionar la información

proporcionada por la tecnología. Hay muchas decisiones, nutricionales, de salud reproductiva, y de medio ambiente tomadas por el productor lechero que tienen un impacto importante sobre los cambios en las reservas corporales tanto para vacas individuales como para los grupos de vacas. El nivel de gestión desempeña un papel fundamental en la determinación de los rendimientos de la inversión en la tecnología de Producción Lechera de Precisión. El nivel de gestión en la gestión diaria de vacas individuales también puede influir en el impacto de las tecnologías de Producción Lechera de Precisión. Van Asseldonk (1999) definió la capacidad de gestión como "tener las características personales y habilidades apropiadas para abordar los problemas y las oportunidades en el momento adecuado y en la forma correcta". El uso eficaz de un sistema de información requiere una inversión en capital humano, además de la inversión en la tecnología (Streeter and Hornbaker, 1993). Entonces, el nivel de producción de leche fue la siguiente entrada más sensible. A medida que el nivel de producción de leche aumenta, los beneficios de la reducción de la incidencia de la enfermedad y los intervalos de parto han aumentado. Como era de esperar, el VAN aumentó con una de mayor incidencia base de cetosis debido a que los efectos de BCS en cetosis serían exagerados. El precio de compra de la tecnología tuvo un impacto relativamente pequeño en el VAN al igual que la tasa base de sacrificio.

Consideraciones sobre la Adopción

La lista de tecnologías de la Producción Lechera de Precisión utilizadas para controlar y supervisar el estado de los animales sigue creciendo. A pesar de la amplia disponibilidad, la adopción de estas tecnologías en la industria lechera ha sido relativamente escasa hasta ahora (Gelb *et al.*, 2001, Huirne *et al.*, 1997). Los beneficios económicos percibidos de invertir en una nueva tecnología son siempre un factor que influye en la adopción de tecnología. Otros factores que influyen en la adopción de la tecnología incluyen el grado de impacto en los recursos utilizados en el proceso de producción, el nivel de gestión necesario para aplicar la tecnología, el riesgo asociado con la tecnología, las limitaciones institucionales, los objetivos y motivaciones del productor, y que tengan interés en una tecnología específica (Dijkhuizen *et al.*, 1997, van Asseldonk, 1999). Las características del principal encargado de la toma de decisiones que influyen en la adopción de tecnología incluyen: la edad, el nivel de educación, el estilo de aprendizaje, los objetivos, el tamaño de la explotación, la complejidad del negocio, el aumento de la tenacidad, las percepciones de riesgo, el tipo de producción, la propiedad de una empresa no agrícola, la innovación en la producción, el gasto medio de información, y el uso de la tecnología por parte de sus compañeros y otros miembros de la familia. La investigación sobre la adopción de tecnologías de Producción Lechera de Precisión es limitada, particularmente en América del Norte.

Para remediar esta situación, se distribuyó una encuesta de cinco páginas a todos los productores de leche con licencia en Kentucky (N=1074), el 1 de julio de 2008. Dos semanas después del primer correo, se envió una postal de seguimiento para recordar a los productores que devolvieran la encuesta. El 1 de agosto de 2008, la encuesta fue reenviada a los productores que no habían reenviado a la encuesta. Se devolvieron un total de 236 encuestas; 7 fueron omitidos debido al incumplimiento dejando 229 para su posterior análisis (21%). La encuesta consistió en preguntas que abarcan la demografía descriptiva general de la granja, la programación de extensión, y el comportamiento de la toma de decisiones. Con respecto a la Producción Lechera de Precisión se presentó la siguiente pregunta a los participantes de la encuesta: *"La adopción de las tecnologías de seguimiento automatizado (ejemplos: los podómetros, conductividad eléctrica para la detección de mastitis) en la industria lechera ha sido lenta hasta ahora. Cuál de los siguientes factores, crees que han influido estas modestas tasas de adopción? (Marque todas las que correspondan)".* Los datos fueron introducidos en una herramienta de encuestas online (KeySurvey, Braintree, MA). El análisis estadístico se realizó utilizando SAS® (Cary, NC). Las encuestas fueron clasificadas por el tamaño del rebaño, el sistema de producción, la edad del operador y el nivel de producción. Se calcularon los cuadrados mínimos entre las categorías de las variables cuantitativas utilizando el procedimiento GLM de SAS®. Se consideraron diferencias estadísticas significativas con un nivel de significancia 0,05 utilizando el test de Tukey para comparaciones múltiples. Para las variables cualitativas, se realizaron análisis de $\hat{c}$ utilizando el procedimiento FREQ del SAS®. Se consideraron diferencias estadísticas significativas a un nivel de significación de 0,05.

Entre los 229 entrevistados, el promedio de tamaño fue de 83,0 ± 101,8 vacas y el promedio de la edad del productor fue de 50,9 ± 12,9. Las razones de las modestas tasas de adopción de tecnologías de Producción Lechera de Precisión y del software de sistemas lecheros están presentadas en la Tabla 1. Los motivos seleccionados por el mayor porcentaje de los encuestados fueron: (1) no estar familiarizados con las tecnologías que están disponibles (55%), (2) costes indebidos a beneficio (42%) y (3) demasiada información proporcionada sin saber qué hacer con ella (36%). El alto porcentaje de productores que indicaron que no estaban familiarizados con las tecnologías disponibles indica que los esfuerzos de marketing puede mejorar la adopción de tecnología. Los beneficios económicos reales o percibidos parecen influir en las tasas de adopción que demuestran la necesidad de modelos económicos para evaluar las ventajas de la tecnología y la re-evaluación de los precios de los productos al por menor. A medida que aumentó el porcentaje de productores que seleccionaron "mala asistencia técnica/ Capacitación" y "problemas de compatibilidad" aumentaron ($p < 0,05$), lo cual puede reflejar experiencias negativas en el pasado. Al desarrollar las tecnologías, los fabricantes deben trabajar con usuarios finales durante el desarrollo y después de la adopción del producto del cliente para aliviar estas frustraciones. Se observaron pocas diferencias significativas entre los grupos de edad, aunque los productores más jóvenes tenían más probabilidad de seleccionar "mejores alternativas/ más fáciles de realizar manualmente". Se deben llevar a cabo estudios de mercado antes del desarrollo de la tecnología para asegurar que las nuevas tecnologías resuelven una necesidad real. La utilización de esta información debería ayudar a los fabricantes de tecnología de la Producción Lechera de Precisión y asesores a desarrollar estrategias para mejorar la adopción de la tecnología. Además, esta información puede ayudar a centrar las estrategias de desarrollo de producto para ambas tecnologías actuales y futuras.

Tabla 1. Los factores que influyen en las bajas tasas de adopción de tecnologías de Producción Lechera de Precisión

Factor	N	Porcentaje
No familiarizado con las tecnologías disponibles	101	55%
Ratio costo/beneficio no deseable	77	42%
Demasiada información sin saber qué Hacer con ella.	66	36%

No hay suficiente tiempo a dedicar a la tecnología	56	31%
Falta de percepción del valor económico	55	30%
Demasiado difícil o complejo de usar	53	29%
Mala ayuda/formación técnico.	52	28%
Mejores alternativas/más fácil de hacer a mano	43	23%
No encaja con las pautas de trabajo del ganadero	40	22%
Temor a la tecnología o el analfabetismo informático	39	21%
No lo suficientemente fiable o flexible	33	18%
No útil/no responde a una necesidad real	27	15%
Tecnología no madura/en espera de mejoras	18	10%
Falta de normalización	17	9%
Mala integración con otros sistemas/ software en la explotación	12	7%
Problemas de compatibilidad	12	7%

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Aunque la Producción Lechera de Precisión está en su infancia, van saliendo al mercado nuevas tecnologías de Producción Lechera de Precisión cada año. Según van desarrollando las nuevas tecnologías, los ingenieros y científicos especializados en animales van encontrándoles una utilidad en la industria lechera. Lo que es más importante, según se van adoptando estas tecnologías en las industrias más grandes, como la industria automovilística o de los ordenadores personales, el coste de las tecnologías base va bajando, haciéndolas económicamente más viables para las explotaciones lecheras. Como la mayor parte de la investigación centrado en las tecnologías de Producción Lechera de Precisión se lleva a cabo en entornos de investigación, se debe tener cuidado si se quiere transferir estos resultados a una situación comercial. Puede que sea necesario llevar a cabo experimentos de campo o simulaciones para aliviar este problema. Dado la diferencia entre el impacto de las tecnologías de la Producción Lechera de Precisión en un entorno de investigación comparado con el entorno comercial, se necesita hacer un esfuerzo adicional a la hora de implantar prácticas de gestión para aprovechar plenamente la información proporcionada por estas tecnologías. Para obtener una mejor comprensión de las deficiencias a la hora de implantar la tecnología, hace falta más investigación para examinar el proceso de implantación, no solo de casos de éxito de la adopción de la tecnología pero también casos de fracasos.

Antes de invertir en una nueva tecnología, se debe llevar a cabo un análisis formal de la inversión para asegurarse que la tecnología es la adecuada para las necesidades de su explotación. El estudio de las decisiones utilizando un modelo de simulación supone más riesgo e incertidumbre característica del sistema lechero. Dados este riesgo e incertidumbre, una simulación estocástica del análisis de la inversión resultará en la existencia de incertidumbre con respecto a la rentabilidad de algunos proyectos. Finalmente, el nivel de aversión al riesgo del gerente de la explotación láctea determinará si se invierte o no en una tecnología basado en los resultados de este tipo de análisis. Quizás la conclusión más interesante de nuestro estudio fue que los factores que influyeron más en la rentabilidad de la inversión en un sistema BCS automatizado fueron los que se relacionan con lo que sucede con la tecnología después de que se ha comprado a causa del incremento de los costes variables necesarios para los cambios en el sistema de gestión y la capacidad de gestión de la explotación. Las herramientas de ayuda, como esta, diseñadas para investigar las decisiones que se toman en una explotación lechera a nivel de sistema pueden ayudar a los productores lácteos a tomar mejores decisiones. Las tecnologías de Producción Lechera de Precisión proporcionan enormes oportunidades de mejoras en la gestión de animales individuales en una explotación láctea. En el futuro, las tecnologías de Producción Lechera de Precisión podrán cambiar la forma en que se gestionan los rebaños de vacas lecheras.

BIBLIOGRAFÍA

- Bannister, F. and D. Remenyi. 2000. Acts of faith: instinct, value, and IT investment decisions. J. Inf. Technol. 15:231-241.
- Bennett, R. M. 1992. The use of 'economic' quantitative modeling techniques in livestock health and disease-control decision making: a review. Prev Vet Med 13(1):63-76.
- Bethard, G. L. 1997. A microcomputer simulation to evaluate strategies for rearing dairy replacements. Page 161. Vol. PhD Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
- Bewley, J. M., M. D. Boehlje, A. W. Gray, H. Hogeveen, S. J. Kenyon, S. D. Eicher, M. A. Russell, and M. M. Schutz. 2010a. Assessing the potential value for an automated dairy dattle body condition scoring system through stochastic simulation. Agricultural Finance Review (Accepted).
- Bewley, J. M., M. D. Boehlje, A. W. Gray, H. Hogeveen, S. J. Kenyon, S. D. Eicher, M. A. Russell, and M. M. Schutz. 2010b. Stochastic simulation using @Risk for dairy business investment decisions. Agricultural Finance Review (Accepted).
- Bewley, J. M., A. M. Peacock, O. Lewis, R. E. Boyce, D. J. Roberts, M. P. Coffey, S. J. Kenyon, and M. M. Schutz. 2008. Potential for estimation of body condition scores in dairy cattle using digital images. J. Dairy Sci. 91:3439-3453.
- Cabrera, V. E., N. E. Breuer, P. E. Hildebrand, and D. Letson. 2005. The dynamic North Florida dairy farm model: A user-friendly computerized tool for increasing profits while minimizing N leaching under varying climatic conditions. Comput. Electron. Agric. 49(2):286-308.
- Carmi, S. 1992. The performance of an automated dairy management data-gathering system. Pages 346-352 in Proc. Proceedings of the International Symposium on Prospects for Automatic Milking. European Association for Animal Production, Wageningen, The Netherlands.
- Clemen, R. T. 1996. Making hard decisions: an introduction to decision analysis. 2nd ed. Duxbury Press, Belmont, CA.
- Davenport, T. H. and J. G. Harris. 2007. Competing on analytics: the new science of winning. Harvard Business School Press, Boston, MA.
- de Mol, R. M. 2000. Automated detection of oestrus and mastitis in dairy cows. Page 177. Vol. PhD Thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Delorenzo, M. A. and C. V. Thomas. 1996. Dairy records and models for economic and financial planning. J. Dairy Sci. 79(2):337-345.
- Dijkhuizen, A. A., R. B. M. Huirne, S. B. Harsh, and R. W. Gardner. 1997. Economics of robot application. Comput.

Electron. Agric. 17(1):111-121.

- Dijkhuizen, A. A., R. B. M. Huirne, and A. W. Jalvingh. 1995. Economic analysis of animal diseases and their control. Prev. Vet. Med. 25(2):135-149.
- Dijkhuizen, A. A., J. A. Renkema, and J. Stelwagen. 1991. Modelling to support animal health control. Agric. Econ. 5(3):263-277.
- Eastwood, C., D. Chapman, and M. Paine. 2004. Precision dairy farming-taking the microscope to dairy farm management.
- FAPRI. 2007. FAPRI (Food and Agricultural Policy Research Institute) 2007 U.S. and World Agricultural Outlook. I. S. U. a. U. o. Missouri-Columbia., ed, Ames, IA.
- Gabler, M. T., P. R. Tozer, and A. J. Heinrichs. 2000. Development of a Cost Analysis Spreadsheet for Calculating the Costs to Raise a Replacement Dairy Heifer. J. Dairy Sci. 83(5):1104-1109.
- Galligan, D. T. and H. Groenendaal. 2001. Economic concepts in the valuation of "products" used in dairy production including a real option's approach. Pages 233-245 in Proc. 36th Annual Pacific Northwest Animal Nutrition Conference, Boise, Idaho.
- Galligan, D. T., W. E. Marsh, and J. Madison. 1987. Economic decision making in veterinary practice: Expected value and risk as dual utility scales. Prev Vet Med 5(2):79-86.
- Gelb, E., C. Parker, P. Wagner, and K. Rosskopf. 2001. Why is the ICT adoption rate by farmers still so slow? Pages 40-48 in Proc. Proceedings ICAST, Vol. VI, 2001, Beijing, China.
- Gelb, E. M. 1996. The economic value of information in an information system. Pages 142-145 in Proc. 6th International Congress for Computer Technology in Agriculture Wageningen, The Netherlands.
- Gould, B. W. 2007. University of Wisconsin-Madison: Understanding Dairy Markets.
- Hamrita, T. K., S. K. Hamrita, G. Van Wicklen, M. Czarick, and M. P. Lacy. 1997. Use of biotelemetry in measurement of animal responses to environmental stressors.
- Huirne, R. 1990. Basic concepts of computerised support for farm management decisions. Euro. R. Agr. Eco. 17:69-84.
- Huirne, R. B. M., S. B. Harsh, and A. A. Dijkhuizen. 1997. Critical success factors and information needs on dairy farms: the farmer's opinion. Livest. Prod. Sci. 48(3):229-238.
- Huirne, R. B. M., H. W. Saatkamp, and R. H. M. Bergevoet. 2003. Economic analysis of farm-level health problems in dairy cattle. Cattle Practice 11(4):227-236.
- Hyde, J. and P. Engel. 2002. Investing in a robotic milking system: a Monte Carlo simulation analysis. J. Dairy Sci. 85(9):2207-2214.
- Jalvingh, A. W. 1992. The possible role of existing models in on-farm decision support in dairy cattle and swine production. Livest. Prod. Sci. 31(3-4):351-365.
- Kristensen, A. R. and E. Jorgensen. 1998. Decision Support Models. Pages 145-163 in Proc. Proc. 25th International Dairy Congress, Aarhus, Denmark.
- Lazarus, W. F., D. Streeter, and E. Jofre-Giraudo. 1990. Management information systems: impact on dairy farm profitability. North Cent. J. Agric. Econ. 12(2):267-277.
- Lee, J. and U. Bose. 2002. Operational linkage between diverse dimensions of information technology investments and multifaceted aspects of a firm's economic performance. J. Inf. Technol. 17:119-131.
- Lien, G. 2003. Assisting whole-farm decision-making through stochastic budgeting. Agric. Syst. 76(2):399-413.
- Marra, M., D. J. Pannell, and A. Abadi Ghadim. 2003. The economics of risk, uncertainty and learning in the adoption of new agricultural technologies: where are we on the learning curve? Agric. Syst. 75(2-3):215-234.
- Marsh, W. E., A. A. Dijkhuizen, and R. S. Morris. 1987. An economic comparison of four culling decision rules for reproductive failure in United States dairy herds using DairyORACLE. J. Dairy Sci. 70:1274-1280.
- Mayer, D. G., J. A. Belward, and K. Burrage. 1998. Optimizing simulation models of agricultural systems. Ann. Oper. Res. 82:219-231.
- Otte, M. J. and P. Chilonda. 2000. Animal health economics:an introduction. in Frontiers in Bioscience. FAO.
- Passam, H. C., A. Tocatlidou, B. D. Mahaman, and A. B. Sideridis. 2003. Methods for decision making with insufficient knowledge in agriculture. Pages 727-731 in Proc. EFITA 2003 Conference, Debrecen, Hungary.
- Philpot, W. N. 2003. Role of technology in an evolving dairy industry. Pages 6-14 in Proc. 2003 Southeast Dairy Herd Management Conference, Macon, Georgia.
- Pietersma, D., R. Lacroix, and K. M. Wade. 1998. A framework for the development of computerized management and control systems for use in dairy farming. J. Dairy Sci. 81(11):2962-2972.
- Ryan, S. D. and D. Harrison. 2000. Considering social subsystem costs and benefits in information technology investment decisions: A view from the field on anticipated payoffs. J. Manage. Inf. Syst. 16(4):11-40.
- Schulze, C., J. Spilke, and W. Lehner. 2007. Data modeling for Precision Dairy Farming within the competitive field of operational and analytical tasks. Comput. Electron. Agric. 59(1-2):39-55.
- Shalloo, L., P. Dillon, M. Rath, and M. Wallace. 2004. Description and validation of the Moorepark Dairy System Model. J. Dairy Sci. 87(6):1945-1959.
- Silk, D. J. 1990. Managing IS benefits for the 1990's. J. Inf. Technol.:185-193.
- Skidmore, A. L. 1990. Development of a simulation model to evaluate effectiveness of dairy herd management. Page 236. Vol. PhD Dissertation. Cornell University, Ithaca, NY.
- Sorensen, J. T., E. S. Kristensen, and I. Thysen. 1992. A stochastic model simulating the dairy herd on a PC. Agric. Syst. 39:177-200.
- Spilke, J. and R. Fahr. 2003. Decision support under the conditions of automatic milking systems using mixed linear models as part of a precision dairy farming concept. Pages 780-785 in Proc. EFITA 2003 Conference, Debrecen, Hungary.
- Streeter, D. H. and R. H. Hornbaker. 1993. Value of information systems: Alternative viewpoints and

illustrations. Pages 283-293 in Proc. Farm level information systems, Zeist, The Netherlands.

- Tomaszewski, M. A., A. A. Dijkhuizen, A. G. Hengeveld, and H. Wilmink. 1997. A method to quantify effects attributable to management information systems in livestock farming. Pages 183-188 in Proc. First European Conference for Information Technology in Agriculture, Copenhagen.
- USDA-NASS. 2007. Agricultural Prices Summary.
- van Asseldonk, M. A. P. M. 1999. Economic evaluation of information technology applications on dairy farms. Page 123. Vol. PhD. Wageningen Agricultural University.
- van Asseldonk, M. A. P. M., R. B. M. Huirne, A. A. Dijkhuizen, and A. J. M. Beulens. 1999a. Dynamic programming to determine optimum investments in information technology on dairy farms. Agric. Syst. 62(1):17-28.
- van Asseldonk, M. A. P. M., A. W. Jalvingh, R. B. M. Huirne, and A. A. Dijkhuizen. 1999b. Potential economic benefits from changes in management via information technology applications on Dutch dairy farms: a simulation study. Livest. Prod. Sci. 60(1):33-44.
- Verstegen, J. A. A. M., R. B. M. Huirne, A. A. Dijkhuizen, and J. P. C. Kleijnen. 1995. Economic value of management information systems in agriculture: a review of evaluation approaches. Comput. Electron. Agric. 13(4):273-288.
- Ward, J. M. 1990. A portfolio approach to evaluating information systems investments and setting priorities. J. Inf. Technol. 5:222-231.

ENGLISH VERSION

Exploring the potential of precision dairy tools

Dr. Jeffrey Bewley

Support Manager-BoviSync, jbewley@bovisync.com

Consultant, CowFocused Housing, jbewley@cowfocused.com

Take Home Messages

- Precision Dairy Farming is the use of technologies to measure physiological, behavioral, and production indicators on individual animals to improve management strategies and farm performance.
- Many Precision Dairy Farming technologies, including daily milk yield recording, milk component monitoring, pedometers, automatic temperature recording devices, milk conductivity indicators, automatic estrus detection monitors, and daily body weight measurements, are already being utilized by dairy producers.
- Other theoretical Precision Dairy Farming technologies have been proposed to measure jaw movements, ruminal pH, reticular contractions, heart rate, animal positioning and activity, vaginal mucus electrical resistance, feeding behavior, lying behavior, odor, glucose, acoustics, progesterone, individual milk components, color (as an indicator of cleanliness), infrared udder surface temperatures, and respiration rates.
- The main objectives of Precision Dairy Farming are maximizing individual animal potential, early detection of disease, and minimizing the use of medication through preventive health measures.
- Perceived benefits of Precision Dairy Farming technologies include increased efficiency, reduced costs, improved product quality, minimized adverse environmental impacts, and improved animal health and well-being.
- Real time data used for monitoring animals may be incorporated into decision support systems designed to facilitate decision making for issues that require compilation of multiple sources of data.
- Technologies for physiological monitoring of dairy cows have great potential to supplement the observational activities of skilled herdspersons, which is especially critical as more cows are managed by fewer skilled workers.
- The economic implications of technology adoption must be explored further to increase adoption rates of Precision Dairy Farming technologies.

INTRODUCTION

Across the globe, the trend toward fewer, larger dairy operations continues. Dairy operations today are characterized by narrower profit margins than in the past, largely because of reduced governmental involvement in regulating agricultural commodity prices. Consequently, small changes in production or efficiency can have a major impact on profitability. The resulting competition growth has intensified the drive for efficiency resulting in increased emphasis on business and financial management. Furthermore, the decision making landscape for a dairy manager has changed dramatically with increased emphasis on consumer protection, continuous quality assurance, natural foods, pathogen-free food, zoonotic disease transmission, reduction of the use of medical treatments, and increased concern for the care of animals. These changing demographics reflect a continuing change in the way in which dairy operations are managed. In large part, many of these changes can be attributed to tremendous technological progress in all facets of dairy farming, including genetics, nutrition, reproduction, disease control, and management. W. Nelson Philpot (2003) captured this change effectively in describing modern dairy farms as "technological marvels." Conceivably, the next "technological marvel" in the dairy industry may be in Precision Dairy Farming.

What is Precision Dairy Farming?

Precision Dairy Farming is the use of technologies to measure physiological, behavioral, and production indicators on individual animals to improve management strategies and farm performance. Many Precision Dairy Farming technologies, including daily milk yield recording, milk component monitoring (e.g. fat, protein, and SCC), pedometers, automatic temperature recording devices, milk conductivity indicators, automatic estrus detection monitors, and daily body weight measurements, are already being utilized by dairy producers. Eastwood *et al.* (2004) defined Precision Dairy Farming as "the use of information technologies for assessment of fine-scale animal and physical resource variability aimed at improved management strategies for optimizing economic, social, and environmental farm performance." Spilke and Fahr (2003) stated that Precision Dairy Farming, with specific emphasis on technologies for individual animal monitoring, "aims for an ecologically and economically sustainable production of milk with secured quality, as well as a high degree of consumer and animal protection." With Precision Dairy Farming, the trend toward group management may be reversed with focus returning to individual cows through the use of technologies (Schulze *et al.*, 2007). Technologies included within Precision Dairy Farming range in complexity from daily milk yield recording to measurement of specific attributes (e.g. fat content or

progesterone) within milk at each milking. The main objectives of Precision Dairy Farming are maximizing individual animal potential, early detection of disease, and minimizing the use of medication through preventive health measures. Precision Dairy Farming is inherently an interdisciplinary field incorporating concepts of informatics, biostatistics, ethology, economics, animal breeding, animal husbandry, animal nutrition, and engineering (Spilke and Fahr, 2003).

Potential Benefits of Precision Dairy Farming

Perceived benefits of Precision Dairy Farming technologies include increased efficiency, reduced costs, improved product quality, minimized adverse environmental impacts, and improved animal health and well-being. These technologies are likely to have the greatest impact in the areas of health, reproduction, and quality control (de Mol, 2000). Realized benefits from data summarization and exception reporting are anticipated to be higher for larger herds, where individual animal observation is more challenging and less likely to occur (Lazarus *et al.*, 1990). As dairy operations continue to increase in size, Precision Dairy Farming technologies become more feasible because of increased reliance on less skilled labor and the ability to take advantage of economies of size related to technology adoption.

A Precision Dairy Farming technology allows dairy producers to make more timely and informed decisions, resulting in better productivity and profitability (van Asseldonk *et al.*, 1999b). Real time data can be used for monitoring animals and creating exception reports to identify meaningful deviations. In many cases, dairy management and control activities can be automated (Delorenzo and Thomas, 1996). Alternatively, output from the system may provide a recommendation for the manager to interpret (Pietersma *et al.*, 1998). Information obtained from Precision Dairy Farming technologies is only useful if it is interpreted and utilized effectively in decision making. Integrated, computerized information systems are essential for interpreting the mass quantities of data obtained from Precision Dairy Farming technologies. This information may be incorporated into decision support systems designed to facilitate decision making for issues that require compilation of multiple sources of data.

Historically, dairy producers have used experience and judgment to identify outlying animals. While this skill is invaluable and can never be fully replaced with automated technologies, it is inherently flawed by limitations of human perception of a cow's condition. Often, by the time an animal exhibits clinical signs of stress or illness, it is too late to intervene. These easily observable clinical symptoms are typically preceded by physiological responses evasive to the human eye (e.g. changes in temperature or heart rate). Thus, by identifying changes in physiological parameters, a dairy manager may be able to intervene sooner. Technologies for physiological monitoring of dairy cows have great potential to supplement the observational activities of skilled herdspersons, which is especially critical as more cows are managed by fewer skilled workers (Hamrita *et al.*, 1997).

Precision Dairy Farming Examples

The list of Precision Dairy Farming technologies used for animal status monitoring and management continues to grow. Because of rapid development of new technologies and supporting applications, Precision Dairy Farming technologies are becoming more feasible. Many Precision Dairy Farming technologies including daily milk yield recording, milk component monitoring (e.g. fat, protein, and SCC), pedometers, automatic temperature recording devices, milk conductivity indicators, automatic estrus detection monitors, and daily body weight measurements are already being utilized by dairy producers. Despite its seemingly simplistic nature, the power of accurate milk weights should not be discounted in monitoring cows, as it is typically the first factor that changes when a problem develops (Philpot, 2003). Other theoretical Precision Dairy Farming technologies have been proposed to measure jaw movements, ruminal pH, reticular contractions, heart rate, animal positioning and activity, vaginal mucus electrical resistance, feeding behavior, lying behavior, odor, glucose, acoustics, progesterone, individual milk components, color (as an indicator of cleanliness), infrared udder surface temperatures, and respiration rates. Unfortunately, the development of technologies tends to be driven by availability of a technology, transferred from other industries in market expansion efforts, rather than by need. Relative to some industries, the dairy industry is relatively small, limiting corporate willingness to invest extensively in development of technologies exclusive to dairy farms. Many Precision Dairy Farming technologies measure variables that could be measured manually, while others measure variables that could not have been obtained previously.

Investment Analysis of Precision Dairy Farming Technologies

Today's dairy manager is presented with a constant stream of new technologies to consider including new Precision Dairy Farming technologies. Galligan and Groenendaal (2001) suggested that "the modern dairy producer can be viewed as a manager of an investment portfolio, where various investment opportunities (products, management interventions) must be selected and combined in a manner to provide a profit at a competitive risk to alternative opportunities." Further, dairy managers must consider both biological and economic considerations simultaneously in their decisions. Traditionally, investment decisions have been made using standard recommendations, rules of thumb, consultant advice, or intuition. Thus, more objective methods of investment analysis are needed (Verstegen *et al.*, 1995).

Adoption of sophisticated on-farm decision-making tools has been scant in the dairy industry to this point. Yet, the dairy industry remains a perfect application of decision science because: (1) it is characterized by considerable price, weather, and biological variation and uncertainty, (2) technologies, such as those characteristic of Precision Dairy Farming, designed to collect data for decision making abound, and (3) the primary output, fluid milk, is difficult to differentiate, increasing the need for alternative means of business differentiation. In "Competing on Analytics: The New Science of Winning," Davenport and Harris (2007) pose that in industries with similar technologies and products, "high performance business processes" are one of the only ways that businesses can differentiate themselves.

Investment analyses of information systems and technologies are common within the general business literature (Bannister and Remenyi, 2000, Lee and Bose, 2002, Ryan and Harrison, 2000, Streeter and Hornbaker, 1993). However, dairy-specific tools examining investment of Precision Dairy Farming technologies are limited (Carmi, 1992, Gelb, 1996, van Asseldonk, 1999), though investment analyses of other dairy technologies abound (Hyde and Engel, 2002). Empirical comparisons of technology before or after adoption or between herds that have adopted a technology and control herds that have not adopted are expensive and biased by other, possibly herd-related differences. As a result, the normative approach, using simulation modeling, predominates in decision support models

in animal agriculture (Dijkhuizen *et al.*, 1991). Investing in new agricultural technologies is all too often a daunting and complex task. First, the standard approach using the Net Present Value is often misleading because it does not adequately account for the underlying uncertainties. Second, the incremental costs and benefits of new technologies require complex interactions of multiple variables that are often non-linear and not intuitive. The complexities surrounding investment in Precision Dairy Farming technologies is one example of this type of complex decision.

Ward (1990) listed three benefits to investment in technology: 1) substitutive, replacing human power with machine power, 2) complementary, improving productivity and employee effectiveness through new ways of accomplishing tasks, and 3) innovative, obtaining a competitive edge. In addition to impacts on production, many technologies may also change milk composition, reproductive efficiency, and disease incidences (Galligan and Groenendaal, 2001). In an analysis of an investment opportunity at the dairy level, cash flows are generally uncertain because of biological variability or incomplete knowledge of the system (Galligan and Groenendaal, 2001). The impact that a Precision Dairy Farming technology has on productive and economic performance is difficult to examine because of the changing nature of the decision environment where investments are often one-time investments but returns accrue over a longer period of time (van Asseldonk, 1999, van Asseldonk *et al.*, 1999a, van Asseldonk *et al.*, 1999b, Verstegen *et al.*, 1995, Ward, 1990). Further, benefit streams resulting from investment in a Precision Dairy Farming technology are highly dependent upon the user's ability to understand and utilize the information provided by the new technology (Bannister and Remenyi, 2000). An economic analysis of the value of Precision Dairy Farming technologies requires consideration of the effect of adoption on both quality and timeliness of decisions (Verstegen *et al.*, 1995). Improvements associated with adoption of new Precision Dairy Farming technologies may increase profits directly through improved utilization of data provided by the technology or indirectly through recommendations of consultants utilizing the new information (Tomaszewski *et al.*, 1997). It is difficult, if not impossible to quantify the economic value of personal welfare associated with a proposed change (e.g. free time or prestige) (Otte and Chilonda, 2000). For example, it is nearly impossible to quantify the satisfaction of having a healthy herd, reduction of animal suffering, reduced human health risks, and environmental improvements (Huirne *et al.*, 2003). Despite efforts to formalize the rational decision making analysis of investment in information technologies, many business executives ultimately make their investment decision based on "gut feel" or "acts of faith" (Bannister and Remenyi, 2000, Passam *et al.*, 2003, Silk, 1990). Ultimately, decision making is and should be dependent upon both rational analysis and instinct (Bannister and Remenyi, 2000).

Simulation of Dairy Farms

Mayer *et al.* (1998) proposed that with the variety of management issues a dairy manager faces in an ever-changing environment (e.g. environmental, financial, and biological), best management strategies cannot be verified and validated with field experiments. As a result, simulation is the only method of "integrating and estimating" these effects (Mayer *et al.*, 1998). Simulations are mathematical models designed to represent a system, such as a dairy farm, for use in decision-making. Simulation models are useful and cost-effective in research that requires complex scenarios involving a large number of variables with large groups of animals over a long period of time under a large range of conditions (Bethard, 1997, Shalloo *et al.*, 2004). The primary advantages of using mathematical computer simulation models in evaluating dairy production issues are the ability to control more variables within the model than with a field trial and the reduced costs associated with this kind of effort (Shalloo *et al.*, 2004, Skidmore, 1990). These economic models can also be useful in evaluating alternatives where very little real data is available yet (Dijkhuizen *et al.*, 1995). Simulating a system is particularly useful when uncertain, complex feedback loops exist (e.g. disease affects production which then impacts other variables further back in the system) (Dijkhuizen *et al.*, 1995). Models that represent system uncertainty, while effectively using available information, provide more realistic insight than models that do not consider a range of responses (Bennett, 1992, Passam *et al.*, 2003).

Simulation or other systemic methods are preferred to capture the complexity of a dairy system as they can evaluate multiple biological and economic factors affecting performance, including management, feeding, breeding, culling, and disease (Skidmore, 1990, Sorensen *et al.*, 1992). Because the dairy system includes environmental, economic, and physical components, accounting for interactions among components and tracing the effects of an intervention through the entire system are essential (Cabrera *et al.*, 2005). Simulation models are ideal for analyzing investment strategies because they can effectively examine improvement in biological parameters based on farm-specific data rather than simple industry averages (Delorenzo and Thomas, 1996, Dijkhuizen *et al.*, 1995, Gabler *et al.*, 2000, Jalvingh, 1992, van Asseldonk *et al.*, 1999b). Simulation of a farm can be accomplished by conducting two simulations, one with and one without a proposed change or intervention and then comparing these simulations to examine the impact on biological or economic parameters of interest (van Asseldonk, 1999). The output of a series of simulations provides a range of results, more realistically depicting biological variability than simple models (Marsh *et al.*, 1987).

Risk and uncertainty are major considerations within a dairy production system because of the random nature of milk production, biology, disease, weather, input costs, and milk prices (Delorenzo and Thomas, 1996). This risk and uncertainty represents a major portion of the difficulty and complexity of managing a dairy operation (Huirne, 1990). Uncertainty must be considered in decision-making to avoid biased estimates and erroneous decisions (Kristensen and Jorgensen, 1998). Future costs and returns are always uncertain (Lien, 2003). Within precision agriculture, accurate representation of risk associated with technology adoption is critical in the decision making process (Marra *et al.*, 2003).

When managers do not have sufficient information to assess the risk outcomes of decisions, they use subjective probabilities based on past experiences and their own judgment (Huirne, 1990). In most situations, decision makers are primarily concerned with the chances of the realized returns from an investment being less than predicted (Galligan *et al.*, 1987). The ability of a model to reflect real world conditions increases with consideration of more variables (Jalvingh, 1992). Nevertheless, to ensure that the model remains practical and reasonable, only variables with the most influence on the final desired outcome should be entered into the model as random (Jalvingh, 1992, Lien, 2003).

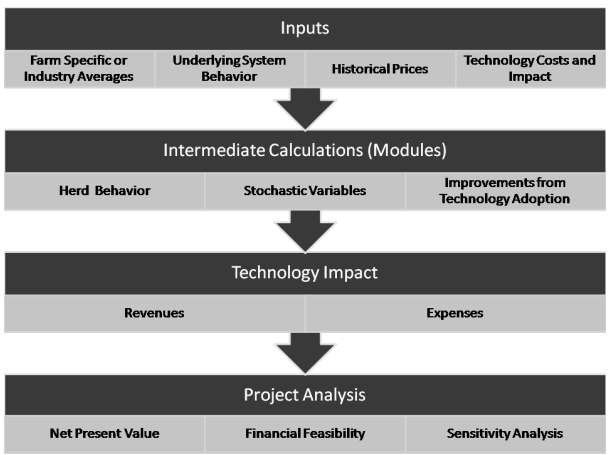
Purdue/Kentucky Research Model

Bewley *et al.* (2010b) developed a simulation model of a dairy farm to evaluate investments in precision dairy farming technologies by examining a series of random processes over

a ten-year period. The model was designed to characterize the biological and economical complexities of a dairy system within a partial budgeting framework by examining the cost and benefit streams coinciding with investment in a Precision Dairy Farming technology. Although the model currently exists only in a research form, a secondary aim was to develop the model in a manner conducive to future utility as a flexible, farm-specific decision making tool. The basic model was constructed in Microsoft Excel 2007 (Microsoft, Seattle, WA). The @Risk 5.0 (Palisade Corporation, Ithaca, NY) add-in for Excel was utilized to account for the random nature of key variables in a Monte Carlo simulation. In Monte Carlo simulation, random drawings are extracted from distributions of multiple random variables over repeated iterations of a model to represent the impact of different combinations of these variables on financial or production metrics (Kristensen and Jorgensen, 1998).

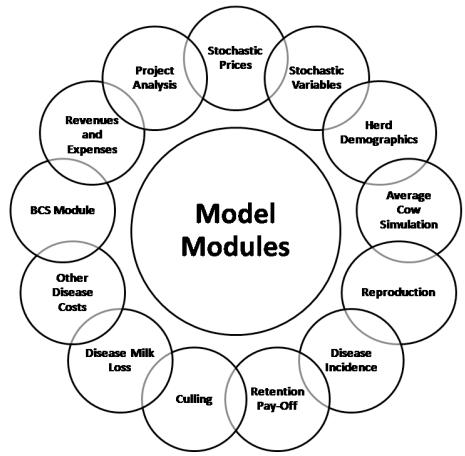
The basic structure of the model is depicted in Figure 1. The underlying behavior of the dairy system was represented using current knowledge of herd and cow management with relationships defined from existing literature. Historical prices for critical sources of revenues and expenses within the system were also incorporated as model inputs. The flexibility of this model lies in the ability to change inputs describing the initial herd characteristics and the potential impact of the technology. Individual users may change these inputs to match the conditions observed on a specific farm.

Figure 1. Diagram depicting general flow of information within the model



After inputs are entered into the model, an extensive series of intermediate calculations are computed within 13 modules, each existing as a separate worksheet within the main Excel spreadsheet. Each module tracks changes over a 10-year period for its respective variables. Within these inter-connected modules (Figure 2), the impact of inputs, random variables, and technology-induced improvements are estimated over time using the underlying system behavior within the model. Results of calculations within 1 module often affect calculations in other modules with multiple feed-forward and feed-backward interdependencies. Each of these modules eventually results in a calculation that will influence the cost and revenue flows necessary for the partial budget analysis. Finally, the costs and revenues are utilized for the project analysis examining the net present value (**NPV**) and financial feasibility of the project along with associated sensitivity analyses.

Figure 2. Diagram of model modules



Agricultural commodity markets are characterized by tremendous volatility and, in many countries, this volatility is increasing with reduced governmental price regulation. As a result, economic conditions and the profitability of investments can vary considerably depending on the prices paid for inputs and the prices received for outputs. Producers are often critical of economic analyses that fail to account for this volatility, by using a single value for critical prices, recognizing that the results of the analysis may be different with higher or lower milk prices, for example. In a simulation model, variability in prices can be accounted for by considering the random variation of these variables. In this model, historical U.S. prices from 1971 to 2006 for milk, replacement heifers, alfalfa, corn, and soybeans were collected from the "Understanding Dairy Markets" website (Gould, 2007). Historical cull cow prices were defined using the USDA-National Agricultural Statistics Service values for "beef cows and cull dairy cows sold for slaughter" (USDA-NASS, 2007). Base values for future prices (2007 to 2016) of milk, corn, soybeans, alfalfa, and cull cows were set using estimates from the Food and Agricultural Policy Research Institute's (**FAPRI**) U.S. and World Agricultural Outlook Report (FAPRI, 2007). Variation in prices was considered within the simulation based on historical variation. In this manner, the volatility in key prices can be considered within a profitability analysis.

Although there is probably no direct way to account for the many decisions that ultimately impact the actual profitability of an investment in a Precision Dairy Farming technology, this model includes a Best Management Practice Adherence Factor (**BMPAF**) to represent the potential for observing the maximum benefits from adopting a technology. The BMPAF is a crude scale from 1 to 100% designed to represent the level of the farm management. At a value of 100%, the assumption is that the farm management is capable and likely to utilize the technology to its full potential. Consequently, they would observe the maximum benefit from the technology. On the other end of the spectrum, a value of 0% represents a scenario where farm management installs a technology without changing management to integrate the newly available data in efforts to improve herd performance. In this case, the farm would not recognize any of the benefits of the technology. Perhaps most importantly, sensitivity analyses allow the end user to evaluate the decision with knowledge of the role they play in its success.

Investment Analysis of Automated Body Condition Scoring

To show how it can be used practically, this model was used for an investment analysis of automatic body condition scores on

dairy farms (Bewley *et al.*, 2010a). Automated body condition scoring (**BCS**) through extraction of information from digital images has been demonstrated to be feasible; and commercial technologies are being developed (Bewley *et al.*, 2008). The primary objective of this research was to identify the factors that influence the potential profitability of investing in an automated BCS system. An expert opinion survey was conducted to provide estimates for potential improvements associated with technology adoption. Benefits of technology adoption were estimated through assessment of the impact of BCS on the incidence of ketosis, milk fever, and metritis, conception rate at first service, and energy efficiency. For this research example, industry averages for production and financial parameters, selected to represent conditions for a U.S. dairy farm milking 1000 cows in 2007 were used. Further details of model inputs and assumptions may be obtained from the author.

Net present value (**NPV**) was the metric used to assess the profitability of the investment. The default discount rate of 8% was adjusted to 10% because this technology has not been marketed commercially; thus, the risk for early adopters of the technology is higher. The discount rate partially accounts for this increased risk by requiring higher returns from the investment. The general rule of thumb is that a decision with a NPV greater than 0 is a "go" decision and a worthwhile investment for the business. The investment at the beginning of the project includes the purchase costs of the equipment needed to run the system in addition to purchasing any other setup costs or purchases required to start the system. Recognizing that a simpler model ignores the uncertainty inherent in a dairy system, Monte Carlo simulation was conducted using the @Risk add-in. This type of simulation provides infinite opportunities for sensitivity analyses. Simulations were run using 1000 iterations in each simulation. Simulations were run, using estimates provided by experts, for scenarios with little to no improvement in the distribution of BCS and with definite improvement.

Profitability Analysis

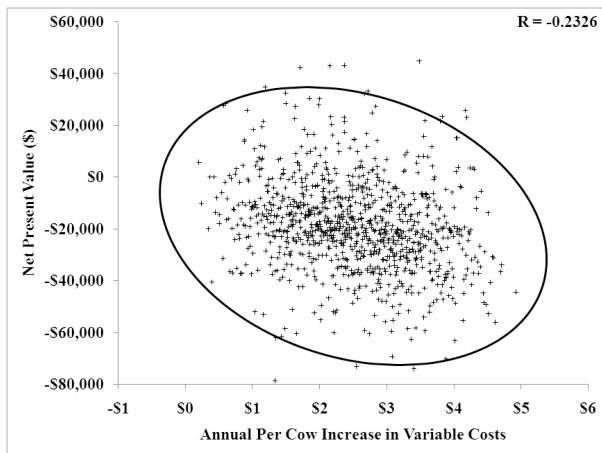
For the small likelihood of improvement simulation, 13.1% of simulation iterations resulted in a positive NPV whereas this same number was 87.8% for the scenario with a definite improvement. In other words, using the model assumptions for an average 1000 cow U.S. dairy in 2007, investing in an automated BCS system was the right decision 13.1% or 87.8% of the time depending on the assumption of what would happen with BCS distribution after technology adoption. The individual decision maker's level of risk aversion would then determine whether they should make the investment. Although this serves as an example of how this model could be used for an individual decision maker, this profitability analysis should not be taken literally. In reality, an individual dairy producer would need to look at this decision using herd-specific variables to assess the investment potential of the technology. The main take home message was that because results from the investment analysis were highly variable, this technology is certainly not a "one size fits all" technology that would prove beneficial for all dairy producers.

Sensitivity Analyses

The primary objective of this research was to gain a better understanding of the factors that would influence the profitability of investing in an automated BCS system through sensitivity analysis. Sensitivity analysis, designed to evaluate the range of potential responses, provides further insight into an investment analysis (van Asseldonk *et al.*, 1999b). In sensitivity analyses, tornado diagrams visually portray the effect of either inputs or random variables on an output of interest. In a tornado diagram, the lengths of the bars are representative of the sensitivity of the output to each input. The tornado diagram is arranged with the most sensitive input at the top progressing toward the least sensitive input at the bottom. In this manner, it is easy to visualize and compare the relative importance of inputs to the final results of the model.

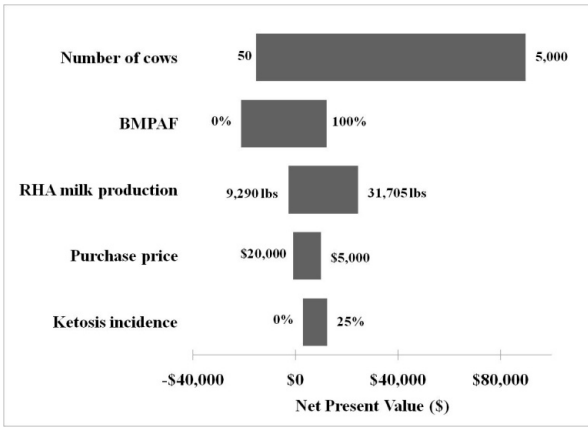
Improvements in reproductive performance had the largest influence on revenues followed by energy efficiency and then by disease reduction. Random variables that had the most influence on NPV were as follows: variable cost increases after technology adoption; the odds ratios for ketosis and milk fever incidence and conception rates at first service associated with varying BCS ranges; uncertainty of the impact of ketosis, milk fever, and metritis on days open, unrealized milk, veterinary costs, labor, and discarded milk; and the change in the percent of cows with BCS at calving ≤ 3.25 before and after technology adoption. Scatter plots of the most sensitive random variables plotted against NPV along with correlation coefficients demonstrate how random variables impact profitability. In both simulations, the random variable that had the strongest relationship with NPV was the variable cost increase. Not surprisingly, as the variable costs per cow increased the NPV decreased in both simulations (Figure 3). Thus, the value of an automated BCS system was highly dependent on the costs incurred to utilize the information provided by the system to alter nutritional management for improved BCS profiles.

Figure 3. Scatter plot of Net Present Value versus annual percentage increase in variable costs (for simulation using all expert opinions provided)



Finally, the results of any simulation model are highly dependent on the assumptions within the model. A one-way sensitivity analysis tornado diagram compares multiple variables on the same graph. Essentially, each input is varied (1 at a time) between feasible high and low values and the model is evaluated for the output at those levels holding all other inputs at their default levels. On the tornado diagram, for each input, the lower value is plotted at the left end of the bar and the higher value at the right end of the bar (Clemen, 1996). Simulations were run for high and low feasible values for 6 key inputs that may affect NPV. The tornado diagram for the 95th percentile NPV from the simulation with a small likelihood of improvement in BCS distribution is presented in Figure 4. Herd size had the most influence on NPV. The NPV was higher for the larger herd because the investment costs and benefits were spread among more cows.

Figure 4. Tornado diagrams for inputs affecting 95th percentile of Net Present Value for simulations using the estimates of all survey respondents[1]



[1] BMPAF is the Best Management Practice Adherence Factor, RHA milk production is rolling herd average milk production in lbs.

The next most important variable was the BMPAF. Again, this result was not surprising and reiterates that one of the most important determinants of project success was what the producer actually does to manage the information provided by the technology. There are many nutritional, health, reproductive and environmental decisions made by the dairy producer that have a major impact on changes in body reserves for both individual cows and groups of cows. Management level plays a critical role in determining returns from investing in a Precision Dairy Farming technology. The level of management in day-to-day handling of individual cows may also influence the impact of Precision Dairy Farming technologies. Van Asseldonk (1999) defined management capacity as "having the appropriate personal characteristics and skills to deal with the right problems and opportunities in the right moment and in the right way." Effective use of an information system requires an investment in human capital in addition to investment in the technology (Streeter and Hornbaker, 1993). Then, the level of milk production was the next most sensitive input. As the level of milk production increased, the benefits of reducing disease incidence and calving intervals increased. As would be expected, the NPV increased with an increased base incidence of ketosis because the effects of BCS on ketosis would be exaggerated. The purchase price of the technology had a relatively small impact on the NPV as did the base culling rate.

Adoption Considerations

The list of Precision Dairy Farming technologies used for animal status monitoring and management continues to grow. Despite widespread availability, adoption of these technologies in the dairy industry has been relatively sparse thus far (Gelb *et al.*, 2001, Huirne *et al.*, 1997). Perceived economic returns from investing in a new technology are always a factor influencing technology adoption. Additional factors impacting technology adoption include degree of impact on resources used in the production process, level of management needed to implement the technology, risk associated with the technology, institutional constraints, producer goals and motivations, and having an interest in a specific technology (Dijkhuizen *et al.*, 1997, van Asseldonk, 1999). Characteristics of the primary decision maker that influence technology adoption include age, level of formal education, learning style, goals, farm size, business complexity, increased tenancy, perceptions of risk, type of production, ownership of a non-farm business, innovativeness in production, average expenditure on information, and use of the technology by peers and other family members. Research regarding adoption of Precision Dairy Farming technologies is limited, particularly within North America.

To remedy this, a five-page survey was distributed to all licensed milk producers in Kentucky (N=1074) on July 1, 2008. Two weeks after the first mailing, a follow-up postcard was mailed to remind producers to return the survey. On August 1, 2008, the survey was resent to producers who had not returned the survey. A total of 236 surveys were returned; 7 were omitted due to incompletion leaving 229 for subsequent analyses (21%). The survey consisted of questions covering general farm descriptive demographics, extension programming, and decision making behavior. With regard to Precision Dairy Farming the following question was presented to survey participants: *"Adoption of automated monitoring technologies (examples: pedometers, electrical conductivity for mastitis detection) in the dairy industry has been slow thus far. Which of the following factors do you feel have impacted these modest adoption rates? (check ALL that apply)."* Data were entered into an online survey tool (KeySurvey, Braintree, MA). Statistical analyses were conducted using SAS® (Cary, NC). Surveys were categorized by herd size, production system, operator age, and production level. Least squares means among categories were calculated for quantitative variables using the GLM procedure of SAS®. Statistical differences were considered significant using a 0.05 significance level using Tukey's test for multiple comparisons. For qualitative variables, χ^2 analyses were conducted using the FREQ procedure of SAS®. Statistical differences were considered significant at a 0.05 significance level.

Among the 229 respondents, mean herd size was 83.0 ± 101.8 cows and mean producer age was 50.9 ± 12.9. Reasons for modest adoption rates of Precision Dairy Farming technologies and dairy systems software are presented in Table 1. The reasons selected by the highest percentage respondents were (1) not being familiar with technologies that are available (55%), (2) undesirable cost to benefit ratios (42%) and (3) too much information provided without knowing what to do with it (36%%). The high percentage of producers who indicated they were unfamiliar with available technologies indicates that marketing efforts may improve technology adoption. Actual or perceived economic benefits appear to influence adoption rates demonstrating the need for economic models to assess technology benefits and re-examination of retail product prices. As herd size increased, the percentage of producers selecting "poor technical support/training" and "compatibility issues" increased ($P < 0.05$), which may be reflective of past negative experiences. In developing technologies, manufacturers should work with end-users during development and after product adoption to alleviate these customer frustrations. Few significant differences were observed among age groups, though the youngest producers were more likely to select "better alternatives/easier to accomplish manually." Prior to technology development, market research should be conducted to ensure that new technologies address a real need. Utilizing this insight should help industry Precision Dairy Farming technology manufacturers and industry advisors develop strategies for improving technology adoption. Moreover, this information may help focus product development strategies for both existing and future technologies.

Table 1. Factors influencing slow adoption rates of Precision Dairy Farming technologies		
Factor	N	Per-cent
Not familiar with technologies that are available	101	55%
Undesirable cost to benefit ratio	77	42%
Too much information provided without knowing what to do with it	66	36%
Not enough time to spend on technology	56	31%
Lack of perceived economic value	55	30%
Too difficult or complex to use	53	29%
Poor technical support/training	52	28%
Better alternatives/easier to accomplish manually	43	23%
Failure in fitting with farmer patterns of work	40	22%
Fear of technology/computer illiteracy	39	21%
Not reliable or flexible enough	33	18%
Not useful/does not address a real need	27	15%
Immature technology/waiting for improvements	18	10%
Lack of standardization	17	9%
Poor integration with other farm systems/software	12	7%
Compatibility issues	12	7%

CONCLUSIONS AND OUTLOOK

Though Precision Dairy Farming is in its infancy, new Precision Dairy Farming technologies are introduced to the market each year. As new technologies are developed in other industries, engineers and animal scientists find applications within the dairy industry. More importantly, as these technologies are widely adopted in larger industries, such as the automobile or personal computing industries, the costs of the base technologies decrease making them more economically feasible for dairy farms. Because the bulk of research focused on Precision Dairy Farming technologies is conducted in research environments, care must be taken in trying to transfer these results directly to commercial settings. Field experiments or simulations may need to be conducted to alleviate this issue. Because of the gap between the impact of Precision Dairy Farming technologies in research versus commercial settings, additional effort needs to be directed toward implementation of management practices needed to fully utilize information provided by these technologies. To gain a better understanding of technology adoption shortcomings, additional research needs to be undertaken to examine the adoption process for not only successful adoption of technology but also technology adoption failures.

Before investing in a new technology, a formal investment analysis should be conducted to make sure that the technology is right for your farm's needs. Examining decisions with a simulation model accounts for more of the risk and uncertainty characteristic of the dairy system. Given this risk and uncertainty, a stochastic simulation investment analysis will represent that there is uncertainty in the profitability of some projects. Ultimately, the dairy manager's level of risk aversion will determine whether or not he or she invests in a technology using the results from this type of analysis. Perhaps the most interesting conclusion from our model case study was that the factors that had the most influence on the profitability investment in an automated BCS system were those related to what happens with the technology after it has been purchased as indicated by the increase in variable costs needed for management changes and the management capacity of the farm. Decision support tools, such as this one, that are designed to investigate dairy herd decisions at a systems level may help dairy producers make better decisions. Precision dairy farming technologies provide tremendous opportunities for improvements in individual animal management on dairy farms. In the future, Precision Dairy Farming technologies may change the way dairy herds are managed.

REFERENCES

- Bannister, F. and D. Remenyi. 2000. Acts of faith: instinct, value, and IT investment decisions. J. Inf. Technol. 15:231-241.
- Bennett, R. M. 1992. The use of 'economic' quantitative modeling techniques in livestock health and disease-control decision making: a review. Prev Vet Med 13(1):63-76.
- Bethard, G. L. 1997. A microcomputer simulation to evaluate strategies for rearing dairy replacements. Page 161. Vol. PhD Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.
- Bewley, J. M., M. D. Boehlje, A. W. Gray, H. Hogeveen, S. J. Kenyon, S. D. Eicher, M. A. Russell, and M. M. Schutz. 2010a. Assessing the potential value for an automated dairy dattle body condition scoring system through stochastic simulation. Agricultural Finance Review (Accepted).
- Bewley, J. M., M. D. Boehlje, A. W. Gray, H. Hogeveen, S. J. Kenyon, S. D. Eicher, M. A. Russell, and M. M. Schutz. 2010b. Stochastic simulation using @Risk for dairy business investment decisions. Agricultural Finance Review (Accepted).
- Bewley, J. M., A. M. Peacock, O. Lewis, R. E. Boyce, D. J. Roberts, M. P. Coffey, S. J. Kenyon, and M. M. Schutz. 2008. Potential for estimation of body condition scores in dairy cattle using digital images. J. Dairy Sci. 91:3439-3453.
- Cabrera, V. E., N. E. Breuer, P. E. Hildebrand, and D. Letson. 2005. The dynamic North Florida dairy farm model: A user-friendly computerized tool for increasing profits while minimizing N leaching under varying climatic conditions. Comput. Electron. Agric. 49(2):286-308.
- Carmi, S. 1992. The performance of an automated dairy management data-gathering system. Pages 346-352 in Proc. Proceedings of the International Symposium on Prospects for Automatic Milking. European Association for Animal Production, Wageningen, The Netherlands.
- Clemen, R. T. 1996. Making hard decisions: an introduction to decision analysis. 2nd ed. Duxbury Press, Belmont, CA.
- Davenport, T. H. and J. G. Harris. 2007. Competing on analytics: the new science of winning. Harvard Business School Press, Boston, MA.
- de Mol, R. M. 2000. Automated detection of oestrus and mastitis in dairy cows. Page 177. Vol. PhD Thesis. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Delorenzo, M. A. and C. V. Thomas. 1996. Dairy records and models for economic and financial planning. J. Dairy Sci. 79(2):337-345.
- Dijkhuizen, A. A., R. B. M. Huirne, S. B. Harsh, and R. W. Gardner. 1997. Economics of robot application. Comput. Electron. Agric. 17(1):111-121.
- Dijkhuizen, A. A., R. B. M. Huirne, and A. W. Jalvingh. 1995. Economic analysis of animal diseases and their control. Prev. Vet. Med. 25(2):135-149.

- Dijkhuizen, A. A., J. A. Renkema, and J. Stelwagen. 1991. Modelling to support animal health control. Agric. Econ. 5(3):263-277.
- Eastwood, C., D. Chapman, and M. Paine. 2004. Precision dairy farming-taking the microscope to dairy farm management.
- FAPRI. 2007. FAPRI (Food and Agricultural Policy Research Institute) 2007 U.S. and World Agricultural Outlook. I. S. U. a. U. o. Missouri-Columbia., ed, Ames, IA.
- Gabler, M. T., P. R. Tozer, and A. J. Heinrichs. 2000. Development of a Cost Analysis Spreadsheet for Calculating the Costs to Raise a Replacement Dairy Heifer. J. Dairy Sci. 83(5):1104-1109.
- Galligan, D. T. and H. Groenendaal. 2001. Economic concepts in the valuation of "products" used in dairy production including a real option's approach. Pages 233-245 in Proc. 36th Annual Pacific Northwest Animal Nutrition Conference, Boise, Idaho.
- Galligan, D. T., W. E. Marsh, and J. Madison. 1987. Economic decision making in veterinary practice: Expected value and risk as dual utility scales. Prev Vet Med 5(2):79-86.
- Gelb, E., C. Parker, P. Wagner, and K. Rosskopf. 2001. Why is the ICT adoption rate by farmers still so slow? Pages 40-48 in Proc. Proceedings ICAST, Vol. VI, 2001, Beijing, China.
- Gelb, E. M. 1996. The economic value of information in an information system. Pages 142-145 in Proc. 6th International Congress for Computer Technology in Agriculture Wageningen, The Netherlands.
- Gould, B. W. 2007. University of Wisconsin-Madison: Understanding Dairy Markets.
- Hamrita, T. K., S. K. Hamrita, G. Van Wicklen, M. Czarick, and M. P. Lacy. 1997. Use of biotelemetry in measurement of animal responses to environmental stressors.
- Huirne, R. 1990. Basic concepts of computerised support for farm management decisions. Euro. R. Agr. Eco. 17:69-84.
- Huirne, R. B. M., S. B. Harsh, and A. A. Dijkhuizen. 1997. Critical success factors and information needs on dairy farms: the farmer's opinion. Livest. Prod. Sci. 48(3):229-238.
- Huirne, R. B. M., H. W. Saatkamp, and R. H. M. Bergevoet. 2003. Economic analysis of farm-level health problems in dairy cattle. Cattle Practice 11(4):227-236.
- Hyde, J. and P. Engel. 2002. Investing in a robotic milking system: a Monte Carlo simulation analysis. J. Dairy Sci. 85(9):2207-2214.
- Jalvingh, A. W. 1992. The possible role of existing models in on-farm decision support in dairy cattle and swine production. Livest. Prod. Sci. 31(3-4):351-365.
- Kristensen, A. R. and E. Jorgensen. 1998. Decision Support Models. Pages 145-163 in Proc. Proc. 25th International Dairy Congress, Aarhus, Denmark.
- Lazarus, W. F., D. Streeter, and E. Jofre-Giraudo. 1990. Management information systems: impact on dairy farm profitability. North Cent. J. Agric. Econ. 12(2):267-277.
- Lee, J. and U. Bose. 2002. Operational linkage between diverse dimensions of information technology investments and multifaceted aspects of a firm's economic performance. J. Inf. Technol. 17:119-131.
- Lien, G. 2003. Assisting whole-farm decision-making through stochastic budgeting. Agric. Syst. 76(2):399-413.
- Marra, M., D. J. Pannell, and A. Abadi Ghadim. 2003. The economics of risk, uncertainty and learning in the adoption of new agricultural technologies: where are we on the learning curve? Agric. Syst. 75(2-3):215-234.
- Marsh, W. E., A. A. Dijkhuizen, and R. S. Morris. 1987. An economic comparison of four culling decision rules for reproductive failure in United States dairy herds using DairyORACLE. J. Dairy Sci. 70:1274-1280.
- Mayer, D. G., J. A. Belward, and K. Burrage. 1998. Optimizing simulation models of agricultural systems. Ann. Oper. Res. 82:219-231.
- Otte, M. J. and P. Chilonda. 2000. Animal health economics:an introduction. in Frontiers in Bioscience. FAO.
- Passam, H. C., A. Tocatlidou, B. D. Mahaman, and A. B. Sideridis. 2003. Methods for decision making with insufficient knowledge in agriculture. Pages 727-731 in Proc. EFITA 2003 Conference, Debrecen, Hungary.
- Philpot, W. N. 2003. Role of technology in an evolving dairy industry. Pages 6-14 in Proc. 2003 Southeast Dairy Herd Management Conference, Macon, Georgia.
- Pietersma, D., R. Lacroix, and K. M. Wade. 1998. A framework for the development of computerized management and control systems for use in dairy farming. J. Dairy Sci. 81(11):2962-2972.
- Ryan, S. D. and D. Harrison. 2000. Considering social subsystem costs and benefits in information technology investment decisions: A view from the field on anticipated payoffs. J. Manage. Inf. Syst. 16(4):11-40.
- Schulze, C., J. Spilke, and W. Lehner. 2007. Data modeling for Precision Dairy Farming within the competitive field of operational and analytical tasks. Comput. Electron. Agric. 59(1-2):39-55.
- Shalloo, L., P. Dillon, M. Rath, and M. Wallace. 2004. Description and validation of the Moorepark Dairy System Model. J. Dairy Sci. 87(6):1945-1959.
- Silk, D. J. 1990. Managing IS benefits for the 1990's. J. Inf. Technol.:185-193.
- Skidmore, A. L. 1990. Development of a simulation model to evaluate effectiveness of dairy herd management. Page 236. Vol. PhD Dissertation. Cornell University, Ithaca, NY.
- Sorensen, J. T., E. S. Kristensen, and I. Thysen. 1992. A stochastic model simulating the dairy herd on a PC. Agric. Syst. 39:177-200.
- Spilke, J. and R. Fahr. 2003. Decision support under the conditions of automatic milking systems using mixed linear models as part of a precision dairy farming concept. Pages 780-785 in Proc. EFITA 2003 Conference, Debrecen, Hungary.
- Streeter, D. H. and R. H. Hornbaker. 1993. Value of information systems: Alternative viewpoints and illustrations. Pages 283-293 in Proc. Farm level information systems, Zeist, The Netherlands.
- Tomaszewski, M. A., A. A. Dijkhuizen, A. G. Hengeveld, and H. Wilmink. 1997. A method to quantify effects attributable to management information systems in livestock farming. Pages 183-188 in Proc. First European Conference for Information Technology in Agriculture, Copenhagen.
- USDA-NASS. 2007. Agricultural Prices Summary.

- van Asseldonk, M. A. P. M. 1999. Economic evaluation of information technology applications on dairy farms. Page 123. Vol. PhD. Wageningen Agricultural University.
- van Asseldonk, M. A. P. M., R. B. M. Huirne, A. A. Dijkhuizen, and A. J. M. Beulens. 1999a. Dynamic programming to determine optimum investments in information technology on dairy farms. Agric. Syst. 62(1):17-28.
- van Asseldonk, M. A. P. M., A. W. Jalvingh, R. B. M. Huirne, and A. A. Dijkhuizen. 1999b. Potential economic benefits from changes in management via information technology applications on Dutch dairy farms: a simulation study. Livest. Prod. Sci. 60(1):33-44.
- Verstegen, J. A. A. M., R. B. M. Huirne, A. A. Dijkhuizen, and J. P. C. Kleijnen. 1995. Economic value of management information systems in agriculture: a review of evaluation approaches. Comput. Electron. Agric. 13(4):273-288.
- Ward, J. M. 1990. A portfolio approach to evaluating information systems investments and setting priorities. J. Inf. Technol. 5:222-231.

¿QUE AFECTA EL PH RUMINAL?

Mike Allen

Michigan State University, Department of Animal Science

RESUMEN

El pH ruminal se ve afectado por el equilibrio entre la producción de ácidos por la fermentación de microbios en el rumen y la absorción, el pasaje, la neutralización y el riesgo de dichos ácidos. La tasa de producción de ácidos de fermentación es muy variable entre las dietas y aumenta significativamente con fuentes de almidón altamente fermentables. Los iones de hidrógeno se eliminan principalmente por la absorción en el rumen, y el gradiente de concentración a través del epitelio ruminal es probablemente el principal factor que afecta la absorción de ácidos en el rumen. La fibra de forraje grueso afecta el pH ruminal al retener digesta en el rumen, lo que proporciona la capacidad de amortiguación inherente a los alimentos, aumenta el flujo de buffer salival a través de la estimulación de la rumiación y aumenta el gradiente de concentración a través de la estimulación de la motilidad ruminal. La selección de la fermentabilidad óptima de la dieta y manteniendo un grupo adecuado de digesta son probablemente los factores clave en la prevención de la acidosis ruminal subaguda.

Palabras Clave: Acidosis ruminal subaguda, la ruminación, motilidad, gradiente de concentración, el almacenamiento en búfer

INTRODUCCIÓN

Para maximizar la producción de leche de vacas lecheras es deseable un pH ruminal ligeramente ácido porque la digestibilidad de la dieta y el rendimiento de proteína microbiana producidos en el rumen se maximiza cuando son alimentadas con dietas altamente fermentable. El pH ruminal cercano o superior a 7,0 puede considerarse como una oportunidad perdida; la ingesta de energía y la producción de proteína microbiana serán submáximas, lo que limitará la producción de leche y (o) disminuirá el costo de la dieta. Sin embargo, a medida que disminuye el pH ruminal, apetito (Shinozaki, 1959), la motilidad ruminal (Ash, 1959; Shinozaki, 1959), el rendimiento microbiano (Hoover, 1986), y la digestión de fibra (Hoover, 1986; Terry *et al.*, 1969) son reducidos. El pH ruminal óptimo depende de la variación dentro del día determinada por la composición de la dieta, el nivel de producción y los sistemas de alimentación. El pH ruminal se mide en un punto temporal o promediados a lo largo del día tiene poco significado biológico sin considerar el patrón de pH ruminal en un día; incluso un mínimo de pH ruminal significa poco si la duración de esta fase es muy corta. Tanto el tiempo dedicado a bajo pH y el grado en que el pH es pisado deben ser considerados (Mackie y Gilcrist, 1979). La variación en el pH ruminal varía considerablemente en un día, aumentando con mayor concentración de almidón dietético (Oba y Allen, 2000, 2003), y se espera que difiera entre sistemas de alimentación. Se espera que la minimización de las fluctuaciones en el pH ruminal permita una mayor ingesta de energía, la producción de proteínas microbianas y una mejor salud del animal. El objetivo de este trabajo es identificar y analizar los factores que afectan el pH ruminal como un sistema dinámico, a fin de que los sistemas de alimentación puedan ser gestionados para limitar la acidosis ruminal subaguda.

La producción de ácido ruminal

La concentración de iones de hidrógeno ruminal (descrita por el pH) está determinada por el equilibrio entre la producción de ácido de fermentación y la eliminación de iones de hidrógeno por absorción, neutralización, efecto tampón y paso. Ácidos ruminal son productos finales de la fermentación microbiana e incluyen ácidos acético, propiónico y butírico. Son ácidos suaves con pKa de alrededor de pH 4.8 y son los principales ácidos implicados en la acidosis ruminal subaguda. El ácido láctico es también producido por los microbios del rumen (p. ej. *Streptococcus bovis, lactobacilos*), y su constante de disociación ácida es 10 veces mayor que los principales AGV, por lo que tiene una influencia mucho mayor sobre el pH ruminal por debajo de pH 5. Aunque el ácido láctico está claramente involucrado en la acidosis aguda, no es probable que sea un contribuyente común a la acidosis ruminal subaguda (véase figura 1B) porque es normalmente sólo un producto final de la fermentación secundaria que se metaboliza rápidamente en el rumen (Gill *et al.* 1986).

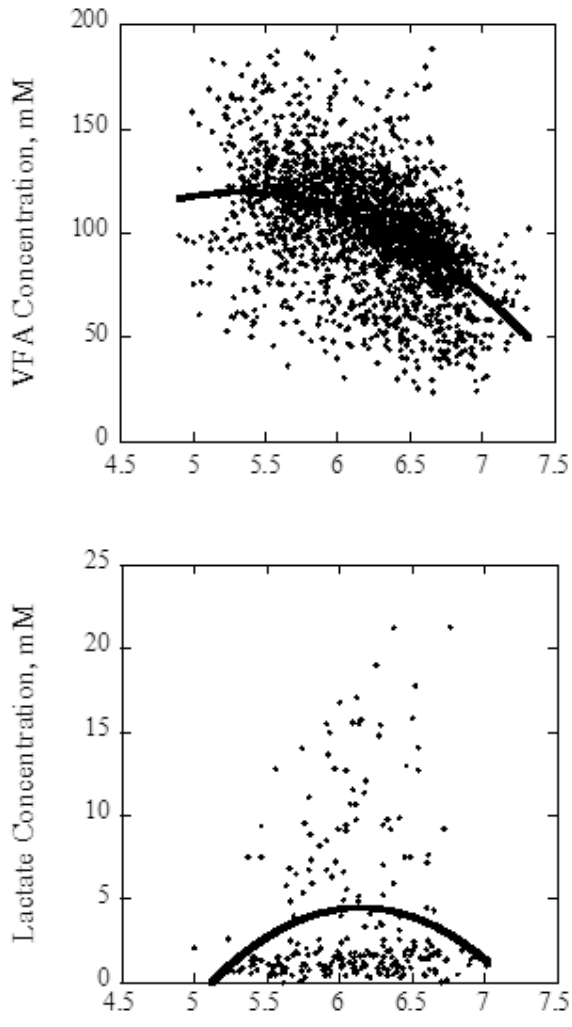


Figura 1. El panel A que muestra la relación entre la concentración ruminal de VFA y pH ruminal de líquido ruminal muestreados cada 20 minutos durante periodos de 24 h en un experimento factorial 2x2 con una réplica de 4x4 cuadrados latinos (Oba y Allen, 2003). Los tratamientos fueron el método

de conservación del grano de maíz con alto contenido de humedad (vs. seco) y el contenido de almidón de la dieta (21 a 32%). La relación es cuadrática (P < 0,0001). El Panel B muestra la concentración de lactato ruminal de la muestras de el mismo experimento (cuadrática, P < 0,01).

Tanto los importes y los patrones de la producción de ácido y extracción determinan la respuesta fisiológica a pH ruminal. La producción diaria total de ácidos de fermentación está determinada principalmente por la ingesta de materia orgánica (OM) y la proporción de materia orgánica degradada ruminal (RDOM) en la dieta, y la ingesta de ambos OM y RDOM varían ampliamente. Allen (1997) informó de que el contenido RDOM de dietas para vacas lecheras promedió 50% y varió de 29 a 67% del total de la OM para experimentos que usan vacas canuladas duodenalmente (48 medios de tratamiento). La cantidad de RDOM promedió 9,8 kg/d y osciló de 5,7 a 15,4 kg/d. Debido a que unos 7,4 equivalentes de ácido son producidos por kg de materia orgánica degradada ruminalmente (RDOM) cuando el rendimiento de las células microbianas de hexosas fermentados es 0,33 (Allen, 1997), la producción de ácido de fermentación aproximado en estos experimentos variaron de 42 a 114 Eq/d. Además de esta amplia gama de posibilidades de producción de ácido, tanto el patrón de la producción de ácido y la magnitud y patrón de neutralización y eliminación de ácido contribuyen a la respuesta fisiológica a pH ruminal. La producción de iones de hidrógeno por segundo para una vaca que consume 20 kg de rumen degradado de 50 OM es de 0.86 meq/seg., que es más de 10 veces el tamaño del conjunto de iones de hidrógeno de ruminal libre (0.08 meq a pH 6,0 en 80 L). Por lo tanto, la comprensión de los efectos de la dieta y la gestión del volumen de trabajo por momentos de los iones de hidrógeno es muy importante para limitar la acidosis ruminal subaguda.

La cantidad de OM fermentable en el rumen en cualquier momento, y por lo tanto la producción de ácido en cualquier momento, dependen de DMI, los patrones de comida, tasa de flujo de OM del rumen y la tasa de fermentación. Los alimentos varían en la fracción de OM disponible para la fermentación y en los índices de digestión y el paso de la fracción disponible del rumen. La misma digestibilidad ruminal puede ser alcanzada por una alimentación con un ritmo lento de la digestión como para una alimentación de ritmo muy rápido de digestión si se retiene en el rumen durante el tiempo suficiente. Además, los piensos con tasas de fermentación muy rápidas, como el maíz molido de alta humedad y la cebada laminada a vapor, provocan una mayor variación en el pH ruminal que los alimentos con tasas de fermentación más moderadas. La fibra generalmente fermenta más lentamente que el almidón y generalmente tiene un tiempo de retención más largo. Por lo tanto, fibras digestibles proporciona un suministro constante de energía a los microbios y a los animales a lo largo del tiempo. En contraste, el grano finamente molido fermenta y pasa por el rumen rápidamente, proporcionar impulsos de energía a los microbios del rumen y AGV al animal. La disponibilidad rápida de energía dentro de un día o a través de dietas puede producir una variación en la eficiencia del rendimiento de células microbianas a partir de hexosa debido al desacoplamiento de la digestión y el crecimiento celular (Voelker y Allen, 2003), contribuyendo aún más a la variación diaria del pH ruminal.

La cantidad de ingesta de alimento y las características de alimentación contribuyen a la variación tanto en la cantidad como en el patrón de producción de ácido de fermentación. Simultáneamente, la variación en la cantidad y el patrón de eliminación de ácido puede estabilizar o aumentar la variación en la concentración de ácido ruminal.

Extracción de iones de hidrógeno

Un modelo de producción de iones de hidrógeno y extracción del rumen indicaron que la mayoría (> 50%) de ácido se retira del rumen por absorción a través de la pared del rumen (Allen, 1997). Se identificaron otras vías de eliminación como la incorporación al agua (28%) a través del ácido carbónico del bicarbonato salival, y el flujo del rumen como dihidrogenofosfato (10%), AGV (˜ 3%), amonio (˜ 2%) y partículas (<2%).

Conversión a agua El sistema de efecto tampón de carbonato elimina una gran fracción de iones de hidrógeno; los iones de hidrógeno se combinan con bicarbonato a ácido carbónico (H2CO3) que se convierte rápidamente en H2O y CO2. Aunque el pKa de bicarbonato es 6.1, el pKa eficaz es mucho mayor (˜7.0) porque el rumen es un sistema abierto; el CO_2 se pierde constantemente por los eructos con una pérdida de bicarbonato e iones de hidrógeno desde el sistema.

Pasaje, El sistema de efecto tampón de fosfato es diferente del sistema de carbonato porque el fosfato se elimina solo por el paso (a excepción de una incorporación menor en las células microbianas) y el pKa del fosfato de hidrógeno es mayor a 7.2. A pH 6,0, aproximadamente el 94% del hidrogenofosfato secretado está complejado como dihidrogenofosfato, que se elimina por paso con la fracción líquida. Los iones de hidrógeno pasan desde el rumen asociado con VFAs (˜3%), amoníaco (˜2%), y se alimentan de residuos (˜2%; Allen, 1997). Por lo tanto, las tasas de pasaje de alimentación tanto sólidos como líquidos pueden afectar el pH ruminal.

La secreción de saliva pH ruminal disminuye a menudo después de las comidas y con frecuencia aumenta durante los episodios de la ruminación (Figura 2). La disminución después de las comidas, es debida a la producción de ácidos de la fermentación OM consumidos, mientras que el aumento durante la rumia suele atribuirse a la secreción de reservas en la saliva. El pH ruminal fue muy sensible en la única vaca representada en la figura; la respuesta del pH ruminal a comidas y episodios de rumiando dependen de la presencia de reservas de restos existentes y por lo tanto no es siempre tan dramático. La saliva contiene restos de bicarbonato y fosfato y neutraliza los ácidos en el rumen. Las concentraciones de fosfato y bicarbonato de la saliva se han reportado como 126 y 26 meq/L, respectivamente (Bailey y Balch, 1961), la composición de la saliva es relativamente constante y no es muy afectada por la dieta o el consumo de alimento (Erdman, 1988). Por lo tanto las diferencias en el flujo salival de restos en el rumen son una función de la saliva. El tiempo de mascado por día y la fracción del total de tiempo masticado empleado en rumiar estaban muy relacionados con el contenido de FDN del forraje de la dieta y la longitud de las partículas del forraje (Allen, 1997), confirmando el papel de forraje NDF en estimular la masticación. Un metanálisis de los medios de tratamiento de la literatura reveló que la concentración de NDF de forraje en las dietas se relacionó positivamente con el pH ruminal (r2 = 0,63, P <0,001) mientras que la concentración de NDF de todas las fuentes no se relacionó, mostrando la importancia de la efectividad de forraje NDF para mantener el pH (Allen, 1997). Aunque esta correlación es en parte el resultado del aumento del flujo de saliva durante la rumia, hay probablemente efectos adicionales de fibra efectiva. Utilizando las tasas de flujo de saliva reportadas en la literatura para comer, rumiar y actividades inactivas, Allen (1997) calculó que aumentar la concentración de NDF en forrajes puede aumentar el tiempo total de masticación en 200 min / d, el flujo salival amortiguado solo aumentó 2.3 eq / d. o alrededor del 5%. Esto sugiere

que los métodos utilizados para medir el flujo de saliva subestimaron drásticamente la verdadera diferencia entre las tasas de flujo de saliva ociosa y masticatoria, o mecanismos adicionales determinan la relación entre el NDF de forraje y el pH ruminal. Es posible que el efecto de FND de forraje en el pH ruminal sea el resultado del incremento de la motilidad ruminal y mantenimiento de la reserva de digesta ruminal además de un mayor flujo del resto salival.

Almacenamiento de iones de hidrógeno

La fermentación basal del bolo alimenticio en el rumen proporciona un flujo bastante coherente de ácidos, pero el flujo total es pulsátil, con una amplitud y frecuencia determinada por los patrones de comida y fermentabilidad de la dieta. Apariencia del portal de AGV y, por lo tanto, la extracción de iones de hidrógeno por absorción, también es pulsátil y está vinculado a los patrones de comidas (Benson *et al.*, 2002). Cada comida podría proporcionar el sustrato para la producción de más de 7.000 meq de ácido a lo largo del tiempo para las vacas consumen 10 comidas/d. La extracción de iones de hidrógeno por neutralización se esperada también porque aumenta la secreción de saliva pulsátil durante la rumia y la vaca rumia en episodios entre comidas durante todo el día (Figura 2).

La variación diurna en la concentración de iones de hidrógeno ruminal varía dependiendo de la relación entre los patrones de comida y de la rumia. La capacidad amortiguadora del contenido ruminal es un factor cuyo efecto sobre el ion de hidrógeno libre y por lo tanto en el pH ruminal es poco entendido. El efecto tampón en el rumen incluyen residuos de alimento sin digerir y células microbianas, tampones salivales y AGV. El fosfato de hidrógeno es menos de un resto en el rumen que es un alcalizador porque está casi totalmente complejado con iones de hidrógeno por debajo de pH 6. Los ácidos de fermentación y los amortiguadores salivales podrían tener un mayor efecto sobre el pH ruminal cuando el pH es relativamente alto (es decir, 6.5), porque el pH es una escala de registro y la concentración de hidrógeno es un orden de magnitud inferior a pH 6.5 que a pH 5.5. Sin embargo, el pH 5,5 está determinado por la concentración de VFA,

amortiguación de digesta, y la eliminación de iones de hidrógeno a través del sistema de bicarbonato. Esto presenta una gran variación en la respuesta de pH ruminal de concentración AGV (Figura 1A). Se espera que la reserva de bicarbonato en el rumen se agote rápidamente a medida que disminuye el pH debido a que el sistema pierde el CO2 por eructos. Por lo tanto, la falta de relación entre la concentración de AGV ruminal y pH ruminal en pH menor a 6.0 se muestra en la Figura 1A es probablemente debido a la amortiguación por digesta y la eliminación previa de iones de hidrógeno por el sistema de bicarbonato y el fosfato de hidrógeno, y menos el resultado de la amortiguación real de la saliva. Como pH ruminal disminuye por debajo de 5,0, es muy resistente al cambio en cualquier dirección debido a la alta concentración de iones de hidrógeno y la gran capacidad amortiguadora de AGV y la digesta; cualquier ácido adicional producido es pequeño con relación a la cantidad existente y también es más probable que sea almacenado.

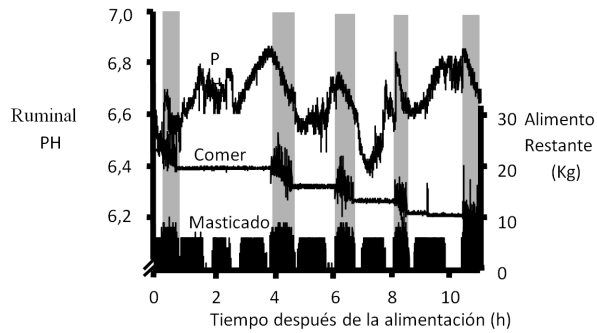


Figura 2. La relación entre el pH ruminal, comidas, y la masticación de una vaca alimentada con una dieta de 35% FDN dos veces al día. El pH ruminal está representado por la línea superior. El peso de la alimentación restante es medido por un pesebre suspendido de una célula de carga y está representado por la línea media. Las comidas son representadas por barras verticales. Los aumentos en la alimentación remanente que se registraron durante los períodos de alimentación se debieron a la baja presión aplicada por la vaca en el pesebre. La actividad de masticación está representada por la línea inferior. Debido a que se representan muchos puntos, la actividad de masticación aparece como bloques de alimentación y episodios de rumia. El pH ruminal disminuyó rápidamente después de las comidas y aumentó rápidamente durante la rumia. De Allen (1997).

La capacidad amortiguadora (BC) de piensos varía considerablemente. Los cereales tienen bajas reservas de BC, bajos en proteínas y los forrajes de pasto tienen un contenido intermedio de BC, y los forrajes de leguminosas y los alimentos ricos en proteínas tienen una alta BC (Jasaitis *et al.*, 1987). Entre los forrajes, BC tiende a aumentar con la madurez (Jasaitis *et al.*, 1987) y con ensilaje (Erdman, 1988). Normalmente, solo se utiliza una fracción de la BC de los alimentos, ya que la mayoría de BC tiene un pH inferior al pH ruminal normal (Allen, 1997). Sin embargo, a medida que el pH disminuye por debajo de 5.5, se usa una fracción cada vez mayor del total de BC de digesta. Por lo tanto, la BC de los alimentos y la digesta ruminal son muy importantes para estabilizar el pH ruminal. Es probable que el mantenimiento del grupo de digesta ruminal sea de especial importancia durante el período de periparto y otras instancias de baja ingesta de alimento, de modo que se mantenga la capacidad de digesta.

Absorción el rumen es el sitio de absorción de VFA y las moléculas absorbidas están predominantemente en forma no disociada (Ash y Dobson, 1963). Por lo tanto, la absorción de VFA da como resultado la eliminación neta de iones de hidrógeno del rumen. La tasa de absorción de VFA depende del área de superficie absorbente, el pH y el gradiente de concentración a través del epitelio ruminal. El área superficial absorbente es una función del tamaño del rumen, el grado de llenado (Djikstra *et al.*, 1995) y el área de la superficie papilar (Dirksen *et al.*, 1985). Además, la paraqueratosis reduce el área superficial efectiva para la absorción; la acidosis puede tener efectos acumulativos, disminuyendo el área de superficie para la absorción y aumentando el riesgo de brotes futuros de acidosis. Las respuestas adaptativas del tamaño de las papilas ruminales a las dietas que varían en la OM fermentada ruminalmente se han propuesto como un factor importante que afecta la susceptibilidad de algunos animales a la acidosis ruminal (Dirksen *et al.*, 1985). El área superficial de las papilas ruminales se ve afectada por la dieta (Dirksen *et al.*, 1985; Xu y Allen, 1999) y ofrecer dietas ricas en fibra durante el período

seco puede disminuir el área de las papilas lo suficiente como para disminuir la tasa de absorción de VFA. Sin embargo, en la práctica, el área de la superficie de las papilas podría no limitar la tasa de absorción de AGV de las vacas de transición. La fermentabilidad de las dietas comúnmente recomendadas para las vacas secas, particularmente las previas al parto, probablemente sea adecuada para mantener la superficie absorbente. Asimismo, la tasa de absorción muestra una disminución de la respuesta de la superficie a medida que esta incrementa (Xu y Allen, 1999). Además, las relaciones observadas entre las papilas de área de superficie y la tasa de absorción de los AGV durante el período de transición se confunden por otros factores como el pH ruminal y el gradiente de concentración, por lo que es difícil evaluar la importancia de la adaptación de las papilas del rumen antes del parto.

Los efectos del pH en las tasas de absorción fraccional de los ácidos acético, propiónico y butírico fueron informados por Dijkstra *et al.* (1993) usando rumenes evacuados y lavados. Las tasas de absorción fueron similares entre los AGV a pH 7,2, pero como el pH se redujo a 4,5, la tasa de absorción casi se triplicó para el butirato, casi se duplicó para el propionato y no se vio afectada por el acetato. Debido a que tienen constantes de disociación ácida similares con fracciones similares en la forma no ionizada, las diferencias en las tasas de absorción se deben probablemente a diferentes gradientes de concentración causados por el metabolismo en el epitelio ruminal (Dijkstra *et al.*, 1993). El butirato se metaboliza ampliamente por el epitelio ruminal, seguido por el propionato, pero el acetato se metaboliza en mucha menor medida (Sander *et al.*, 1959). Los ácidos de fermentación se absorben por difusión pasiva desde altas concentraciones dentro del rumen a concentraciones más bajas en las células epiteliales; por lo tanto, se espera que los factores que aumentan la concentración de AGV en el borde epitelial dentro del rumen y disminuyen la concentración dentro de las células para aumentar la tasa de absorción. *El gradiente de concentración podría ser un factor importante que afecta la tasa de absorción de VFA del rumen y, por lo tanto, el pH ruminal.*

Debido a que los VFA se absorben principalmente en el estado no disociado, y debido a que existe una mayor proporción de VFA en esa forma a un pH más bajo, se espera que la tasa fraccional de absorción aumente a medida que disminuye el pH. Si bien esto se ha demostrado usando rumenes evacuados y lavados (Dijkstra *et al.*, 1993), podría no ser el caso en la práctica. La técnica de rumen lavado maximiza el gradiente de concentración, disminuyendo la concentración intracelular de AGV debido a la eliminación del contenido ruminal y aumentando la concentración en el borde epitelial dentro del rumen porque las soluciones de AGV añadidas se mezclan fácilmente. Desarrollamos un método para medir la tasa relativa de absorción de AGV que no requiere evacuación ruminal, mediante vaciamiento de pulso de valerato y un marcador líquido (EDTA Co) y calculando la tasa de absorción como la tasa de cambio de la relación de concentración de VALERATO a concentración de cobalto (Allen *et al.*, 2000). Usando esta técnica, encontramos que la tasa de absorción de valerato varió de ~ 20 a 60% / h (Voelker y Allen, 2003) y fue el factor primario relacionado con la concentración de VFA en el rumen que varió de ~ 125 a 155 mM. Como era de esperar, la concentración de VFA ruminal se correlacionó negativamente con la tasa de absorción de valerato (r^2 = 0,48; P <0,001) y la tasa de pases líquidos (r^2 = 0,24; P <0,01); El 72% de la variación en la concentración ruminal de VFA se debió a las tasas combinadas de absorción de valerato y paso de líquido.

Informamos de que la tasa de absorción de VFA fue más lenta, no más alta, bajo un pH ruminal más bajo (Voelker y Allen, 2003); esto contradice los datos obtenidos usando rumenes lavados. Aunque la motilidad del rumen no se midió en nuestro estudio, la tasa de absorción del valerato aumentó con una mayor tasa de paso de NDF no digerible y tendió a aumentar con una mayor velocidad de paso del líquido, que podrían ser indicadores de la motilidad del rumen. Lo que es más, el índice de paso NDF indigestible decreció a medida que descendió el pH. En otro estudio reciente de nuestro laboratorio (Taylor y Allen no publicado) se verificó una absorción de valerato más lenta a pH más bajo. *Esta es una evidencia adicional de que el gradiente de concentración podría ser un factor dominante que afecta la tasa de absorción de VFA y, por lo tanto, el pH ruminal.* La motilidad ruminal afecta la velocidad de absorción porque se necesita una mezcla constante del contenido ruminal para mantener las concentraciones de AGV en el epitelio ruminal donde ocurre la absorción. Las contracciones ruminales se inhiben a un pH ruminal bajo (Shinozaki, 1959), disminuyendo la mezcla y la velocidad de absorción de VFA y disminuyendo aún más el pH. Se espera que la estimulación de las contracciones ruminales mediante fibra físicamente efectiva aumente la mezcla y la tasa de absorción de VFA. Las dietas que proporcionan un rumen más constante en animales propensos a una ingesta de alimento drásticamente reducida (periparto o animales de lactancia temprana) pueden reducir la aparición de acidosis subaguda al realimentar estimulando la motilidad ruminal a pesar del bajo consumo de alimento y manteniendo la capacidad de amortiguación de digesta ruminal. Otro factor que podría estar relacionado con el gradiente de concentración es la producción de leche; Voelker y Allen (2003) informaron una relación positiva entre la tasa de absorción de valerato y el rendimiento de FCM de las vacas (R = 0.49, P <0.01). Las vacas con alta producción de leche tienen un mayor flujo sanguíneo y una mayor capacidad para metabolizar VFA absorbidos, lo que disminuirá sus concentraciones en la sangre, aumentando el gradiente de concentración del rumen a la sangre. También se espera que la mayor movilidad ruminal aumente el flujo sanguíneo al rumen y la utilización de VFA dentro del tejido ruminal, aumentando aún más el gradiente de concentración y la tasa de absorción de VFA.

Debido a que más de 50%de ácido producido en el rumen es retirado por la absorción por la pared de rumen (Allen 1997) maximizando y manteniendo el índice de absorción de VFA que debería ser la primera estrategia para estabilizar el pH del ruminal. La promoción de la motilidad ruminal y mantener el gradiente de concentración por la pared del rumen debería contribuir a este proceso. La fibra físicamente efectiva, especialmente de los forrajes debería prevenir la acidosis y reducir las fluctuaciones de pH no solo estimulando la masticación y el flujo de tampón salival, sino también manteniendo el conjunto de digesta y promoviendo la motilidad ruminal. La fibra de forraje promueve la formación de esteras y la retención de partículas de alimentación, lo que mantiene un suministro más constante de VFA y debe reducir las fluctuaciones en el pH ruminal. Sin embargo, la necesidad de fibra promueve la

la rumia, la motilidad ruminal y la retención de digesta deben equilibrarse con su potencial para limitar la ingesta de alimento debido a los efectos de llenado ruminal (Allen, 2000). El uso de fibra de forraje para mantener el pool de digesta ruminal será especialmente importante cuando se espera una ingesta de alimento deprimida y cuando es improbable que la ingesta de alimento se vea limitada por los efectos de llenado, como inmediatamente antes y después del parto.

CONCLUSIÓN

El pH ruminal es una función de los índices de producción y absorción de VFA y paso del ion de hidrógeno, neutralización y efecto tampón. Las dietas y los sistemas de alimentación deberían ser diseñados para ofrecer dietas altamente fermentables mientras que limitan la variación del pH de ruminal. Las características importantes de la dieta que afectan la producción de ácido, y la absorción son la fermentabilidad y la tosquedad de la fibra; los alimentos altamente fermentables deben limitarse, mientras que se debe proporcionar una fibra eficaz adecuada. El gradiente de concentración a través del epitelio ruminal probablemente tenga un gran efecto en la tasa de absorción de AGV y se ve afectado por la motilidad del rumen, el pH ruminal, el flujo sanguíneo y posiblemente por la producción de leche. Esto enfatiza la importancia de la fibra físicamente efectiva para mantener el tamaño de ingesta para ofrecer una reacción de la digesta ruminal, estimular la rumiación y el flujo del tampón salival y promover la motilidad para acentuar la absorción del VFA.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, M. S. 1995. Model of hydrogen flow through the reticulorumen. Proc. XXIII Biannual Rumen Function Conference, Chicago, IL.
- Allen, M. S. 1997. Relationship between ruminal fermentation and the requirement for physically effective fiber. J. Dairy Sci. 80:1447-1462.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598-1624.
- Allen, M. S., L. E. Armentano, M. N. Pereira, and Y. Ying. 2000. Method to measure fractional rate of volatile fatty acid absorption from the rumen. Abstracts Conference on Rumen Function 25:24, Chicago, IL, Nov. 14-16, 2000, Department of Animal Science, M ichigan State University, East Lansing, http://www.msu.edu/user/rumen/index.htm
- Ash, R. W. 1959. Inhibition and excitation of reticulo-rumen contractions following the introduction of acids into the rumen and abomasum. J. Physiol. 169:39.
- Ash, R. W. and A. Dobson. 1963. The effect of absorption on the acidity of rumen contents. J. Phsiol. 169:39.
- Bailey, C. B. and C. C. Balch, 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Br. J. Nutr. 15:383.
- Benson, J. A., Reynolds, C. K., Aikman, P. C., Lupoli, B. & Beever, D. E. (2002) Effects of abomasal vegetable oil infusion on splanchnic nutrient metabolism in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 85: 1804-1814.
- Cassida, K. A. and M. R. Stokes. 1986. Eating and resting salivation in early lactation dairy cows. J. Dairy Sci., 69: 1282.
- Counotte, G. M. H., and R. A. Prins. 1981. Regulation of lactate metabolism in the rumen. Vet. Res. Communic. 5:101.
- Dado, R. G., and M. S. Allen. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. J. Dairy Sci. 78:118.
- Dijkstra, J., H. Boer, J. van Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. Br. J. Nutr. 69:385.
- Dirksen, G. U., H. G. Liebich, and E. Mayer. 1985. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. Bovine Pract. 20:116.
- Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review. J. Dairy Sci., 71:3246.
- Gill, M., R. C. Siddons, and D. E. Beever. 1986. Metabolism of lactic acid isomers in the rumen of silage-fed sheep. 55:399.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci., 69:2755.
- Jasaitis, D. K., J. E. Wohlt, and J. L. Evans. 1987. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. J. Dairy Sci. 70:1391.
- Knowlton, K. F., M. S. Allen, and P. S. Erickson. 1996. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 2. Effect on ruminal measurements and feeding behavior. J. Dairy Sci. 79:565.
- Mackie, R. I., and F. M. C. Gilchrist. 1979. Change in lactate producing and lactate utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high concentrate diet. Applied and Environ. Micro. 38:422.
- Nocek, J. E., and J. B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71:2070.
- Nocek, J. E., and S. Tamminga. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 74:3598.
- 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.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. J. Dairy Sci. 86:174-183.
- Russell, J. B. 2002. Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition, Department of Microbiology, 157 Wing Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.
- Russell, J. B. and M. S. Allen. 1983. Physiological basis for interactions among rumen bacteria: Streptococcus bovis and Megasphaera elsdenii as a model. Page 239 *in:* Current perspectives in microbial ecology. M. J. Klug and C. A. Reddy, ed. Am. Soc. for Microbiol., Washington, DC.
- Sander, E. G., R. G. Warner, H. N. Harrison, and J. K. Loosli. 1959. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of the rumen mucosa in the young calf. J. Dairy Sci. 42:1600-1605.
- Shinozaki, K. 1959. Studies on experimental bloat in ruminants. 5. Effects of various volatile fatty acids introduced into the rumen on the rumen motility. Tohoku J. Agric. Res. 9:237.

- Terry, R. A., J. M. A. Tilley, and G. E. Outen. 1969. Effect of pH on the cellulose digestion under in vitro conditions. J. Sci. Food Agric. 20:317. Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. Effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. . 86:3562-3570.
- Xu, J. and M. S. Allen. 1999. Effects of dietary lactose compared with ground corn grain on the growth rate of ruminal papillae and rate of valerate absorption from the rumen. S. Afr. J. Anim. Sci. 29(ISRP2).

ENGLISH VERSION

What affects ruminal pH?

Mike Allen

Michigan State University, Department of Animal Science,

ABSTRACT

Ruminal pH is affected by the balance between the production of fermentation acids by microbes in the rumen and the absorption, passage, neutralization, and buffering of those acids. The production rate of fermentation acids is highly variable across diets and increases greatly with highly fermentable starch sources. Hydrogen ions are removed primarily by absorption from the rumen, and the concentration gradient across the ruminal epithelium is likely the major factor affecting absorption of acids from the rumen. Coarse forage fiber affects ruminal pH by retaining digesta in the rumen which provides the buffering capacity inherent in feedstuffs, increases salivary buffer flow through stimulation of rumination, and increases the concentration gradient through stimulation of ruminal motility. Selecting optimal diet fermentability and maintaining an adequate digesta pool are likely key factors in preventing subacute ruminal acidosis.

Keywords: subacute rumen acidosis, rumination, motility, concentration gradient, buffering

INTRODUCTION

A slightly acidic ruminal pH is desirable to maximize milk yield of dairy cattle because diet digestibility and yield of microbial protein produced in the rumen are maximized when highly fermentable diets are fed. Ruminal pH near or above 7.0 can be thought of as lost opportunity; energy intake and microbial protein production will be sub-maximal, limiting milk yield and (or) decreasing diet cost. However, as ruminal pH decreases, appetite (Shinozaki, 1959), ruminal motility (Ash, 1959; Shinozaki, 1959), microbial yield (Hoover, 1986), and fiber digestion (Hoover, 1986; Terry *et al.*, 1969) are reduced. The optimal ruminal pH is dependent on within-day variation determined by diet composition, production level, and feeding systems. Ruminal pH measured at one time point or averaged throughout the day has little biological significance without considering the pattern of ruminal pH within a day; even minimum ruminal pH means little if the duration at this pH is very short. Both the time spent at low pH and the extent to which pH is depressed should be considered (Mackie and Gilcrist, 1979). Within-day variation in ruminal pH varies greatly, increasing with increased dietary starch concentration (Oba and Allen, 2000, 2003), and is expected to differ among feeding systems. Minimizing fluctuations in ruminal pH is expected to allow greater energy intake, microbial protein production and improved animal health. The objective of this paper is to identify and discuss factors affecting ruminal pH as a dynamic system, so that feeding systems can be managed to limit subacute ruminal acidosis.

Ruminal acid production

Ruminal hydrogen ion concentration (described by pH) is determined by the balance between fermentation acid production and hydrogen ion removal by absorption, neutralization, buffering, and passage. Ruminal acids are end products of microbial fermentation and include acetic, propionic, and butyric acids. They are mild acids with pKa's around pH 4.8 and are the primary acids involved in subacute ruminal acidosis. Lactic acid also is produced by ruminal microbes (e.g. *Streptococcus bovis, Lactobacilli*), and its acid dissociation constant is 10-fold higher than the major VFA, so it has a much greater influence on ruminal pH below pH 5. Although lactic acid is clearly involved in acute acidosis, it is not likely a common contributor to subacute ruminal acidosis (see Figure 1B) because it is normally only a minor fermentation endproduct that is metabolized rapidly in the rumen (Gill *et al.* 1986).

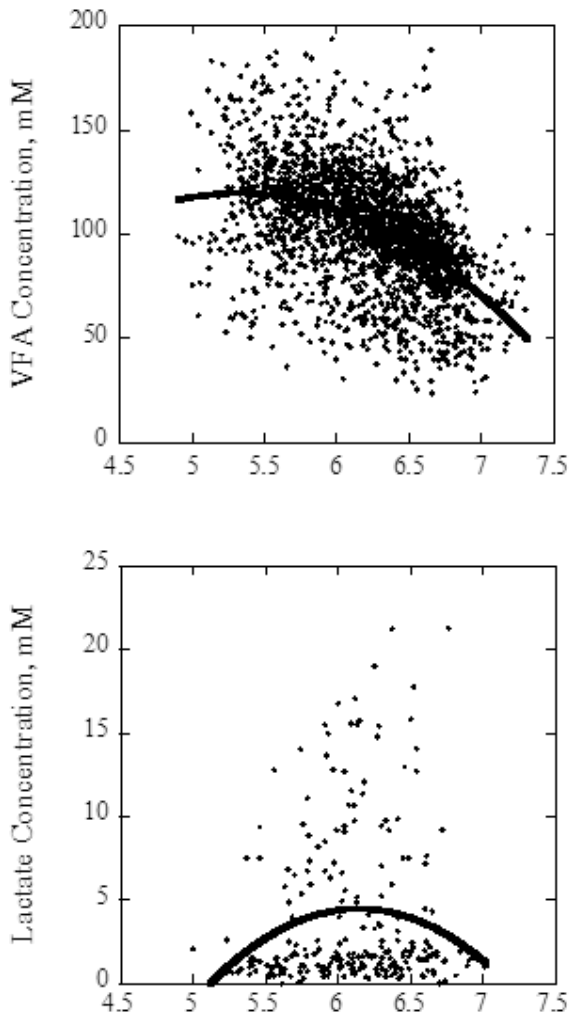


Figure 1. Panel A shows the relationship between ruminal concentration of VFA and ruminal pH for rumen liquid sampled every 20 minutes for 24 h periods in a 2x2 factorial experiment with replicated 4x4 Latin squares (Oba and Allen, 2003). Treatments were conservation method of corn grain (high moisture vs. dry) and diet starch content (21 to 32%). The relationship is quadratic ($P < 0.0001$). Panel B shows ruminal

lactate concentration for samples from the same experiment (quadratic, $P < 0.01$).

Both the amounts and the patterns of acid production and removal determine the physiological response to ruminal pH. Total daily production of fermentation acids is determined primarily by organic matter (OM) intake and proportion of ruminally degraded organic matter (RDOM) in the diet, and both OM intake and RDOM vary widely. Allen (1997) reported that RDOM content of diets for lactating dairy cattle averaged 50% and ranged from 29 to 67% of the total OM for experiments using duodenally canulated cows (48 treatment means). The amount of RDOM averaged 9.8 kg/d and ranged from 5.7 to 15.4 kg/d. Because approximately 7.4 equivalents of acid are produced per kg ruminally degraded organic matter (RDOM) when microbial cell yield from hexose fermented is 0.33 (Allen, 1997), approximate fermentation acid production in these experiments varied from 42 to 114 Eq/d. In addition to this wide range of potential acid production, both the pattern of acid production and the extent and pattern of acid neutralization and removal contribute to physiological response to ruminal pH. The production of hydrogen ions per second for a cow consuming 20 kg of 50 rumen-degraded OM is 0.86 meq/sec, which is more than 10 times the free ruminal hydrogen ion pool size (0.08 meq at pH 6.0 in 80 L). Therefore, understanding effects of diet and management on the moment-by-moment turnover of hydrogen ions is very important for limiting subacute ruminal acidosis.

The amount of fermentable OM in the rumen at any moment, and thus the acid production at any moment, depend upon DMI, meal patterns, flow rate of OM from the rumen, and rate of fermentation. Feeds vary in the fraction of OM available for fermentation and in rates of digestion and passage of the available fraction from the rumen. The same ruminal digestibility can be attained for a feed with a slow rate of digestion as for a feed with a very fast rate of digestion if it is retained in the rumen long enough. Also, feeds with very fast rates of fermentation such as ground high-moisture corn and steam-rolled barley cause greater variation in ruminal pH than feeds with more moderate rates of fermentation. Fiber generally ferments more slowly than starch and usually has a longer retention time. Therefore, digestible fiber provides a consistent supply of energy to microbes and to the animal over time. In contrast, finely ground grain ferments and passes from the rumen quickly, providing pulses of energy to rumen microbes and VFA to the animal. Rapid energy availability within a day or across diets can result in variation in the efficiency of microbial cell yield from hexose because of the uncoupling of digestion and cell growth (Voelker and Allen, 2003), further contributing to within-day variation in ruminal pH.

Feed intake amount and feed characteristics contribute to variation in both amount and pattern of fermentation acid production. Simultaneously, variation in the amount and pattern of acid removal may either stabilize or increase variation in ruminal acid concentration.

Hydrogen ion removal

A model of hydrogen ion production and removal from the rumen indicated that most (> 50%) acid is removed from the rumen by absorption across the rumen wall (Allen, 1997). Other routes of removal were identified as incorporation into water (28%) via carbonic acid from salivary bicarbonate, and flow from the rumen as dihydrogen phosphate (10%), VFA (~3%), ammonium (~2%), and particulate matter (<2%).

Conversion to water A large fraction of hydrogen ions is removed by the carbonate buffer system; hydrogen ions combine with bicarbonate to carbonic acid (H_2CO_3) which is rapidly converted to H_2O and CO_2. Although the pKa for bicarbonate is 6.1, the effective pKa is much higher (~7.0) because the rumen is an open system; CO_2 is constantly lost by eructation with a loss of bicarbonate and hydrogen ions from the system.

Passage The phosphate buffer system is different from the carbonate system because phosphate is removed by passage only (except for minor incorporation into microbial cells) and the pKa of hydrogen phosphate is higher at 7.2. At pH 6.0, approximately 94% of the hydrogen phosphate secreted is complexed as dihydrogen phosphate, which is removed by passage with the liquid fraction. Hydrogen ions also pass from the rumen associated with VFAs (~3%), ammonia (~2%), and feed residues (~2%; Allen, 1997). Therefore, passage rates of both solid and liquid digesta can affect ruminal pH.

Saliva secretion Ruminal pH often decreases following meals and often increases during bouts of rumination (Figure 2). The decrease following meals is because of the production of fermentation acids from the OM consumed while the increase during rumination is usually attributed to the secretion of buffers in saliva. Ruminal pH was highly responsive in the individual cow represented in the figure; the reponsiveness of ruminal pH to meals and ruminating bouts depends on the presence of existing buffer reserves and therefore is not always as dramatic. Saliva contains bicarbonate and phosphate that neutralize and buffer acids in the rumen. The bicarbonate and phosphate concentrations of saliva have been reported as 126 and 26 meq/L, respectively (Bailey and Balch, 1961) and saliva composition is relatively constant and not greatly affected by diet or feed intake (Erdman, 1988). Therefore differences in the flow of salivary buffers into the rumen are a function of saliva flow. Total chewing time per day and the fraction of total chewing time spent ruminating were highly related to forage NDF content of the diet and the particle length of the forage (Allen, 1997), confirming the role of forage NDF in stimulating chewing. A meta-analysis of treatment means from the literature revealed that concentration of forage NDF in diets was positively related to ruminal pH ($r^2 = 0.63$, $P < 0.001$) while concentration of NDF from all sources was not related, showing the importance of effectiveness of forage NDF to maintain ruminal pH (Allen, 1997). Although this correlation is partly the result of increased saliva flow during rumination, there are likely additional effects of effective fiber. Using saliva flow rates reported in the literature for eating, ruminating, and idle activites, Allen (1997) calculated that while increasing dietary forage NDF concentration can increase total chewing time by 200 min/d, salivary buffer flow only increased 2.3 eq/d, or about 5%. This suggests that either the methods used to measure saliva flow drastically underestimated the true difference between idle and chewing saliva flow rates, or additional mechanisms determine the relationship between forage NDF and ruminal pH. It is possible that the effect of forage NDF on ruminal pH is the result of increased ruminal motility and maintenance of ruminal digesta pool in addition to increased salivary buffer flow.

Buffering of hydrogen ions

Basal fermentation of digesta in the rumen provides a fairly consistent flux of acids but the total flux is pulsatile with a frequency and amplitude determined by meal patterns and fermentability of the diet. Portal appearance of VFA, and therefore removal of hydrogen ions by absorption, is also pulsatile and is linked to meal patterns (Benson *et al.*, 2002). Each meal might provide substrate for the production of over

7,000 meq of acid over time for cows consuming 10 meals/d. Removal of hydrogen ions by neutralization is also expected to be pulsatile because saliva secretion increases during rumination and cows ruminate in bouts between meals throughout the day (Figure 2).

Diurnal variation in ruminal hydrogen ion concentration varies depending upon the link between meal patterns and rumination patterns. The buffering capacity of ruminal contents is a factor whose effect on the free hydrogen ion pool and therefore on ruminal pH is poorly understood. Buffers in the rumen include undigested feed residues and microbial cells, salivary buffers, and VFA. Hydrogen phosphate is less of a buffer in the rumen than it is an alkalizer because it is nearly completely complexed with hydrogen ions below pH 6. Fermentation acids and salivary buffers might be expected to have a greater effect on ruminal pH when pH is relatively high (i.e., 6.5), because pH is a log-scale and hydrogen concentration is an order of magnitude lower at pH 6.5 than at pH 5.5. However, pH at 5.5 is determined by the concentration of VFA, buffering of digesta, and the removal of hydrogen ions through the bicarbonate system. This introduces great variation in the response of ruminal pH to VFA concentration (Figure 1A). The reserve bicarbonate pool in the rumen is expected to be depleted quickly as pH declines because CO_2 is lost from the system by eructation. Therefore, the lack of relationship between ruminal VFA concentration and ruminal pH at pH less than 6.0 shown in Figure 1A is probably because of buffering by digesta and previous removal of hydrogen ions by the bicarbonate system and hydrogen phosphate, and less the result of actual buffering by saliva. As ruminal pH declines below 5.0, it is very resistant to change in either direction because of the high hydrogen ion concentration and the great buffering capacity of VFA and digesta; any additional acid produced is slight relative to the existing pool and is also more likely to be buffered.

The buffering capacity (BC) of feedstuffs varies considerably. Cereal grains have low BC, low protein feeds and grass forages have intermediate BC, and legume forages and high protein feeds have high BC (Jasaitis *et al.*, 1987). Among forages, BC tends to increase with maturity (Jasaitis *et al.*, 1987) and with ensiling (Erdman, 1988). Normally only a fraction of the BC of feeds is used as most BC is at pH lower than normal ruminal pH (Allen, 1997). However, as pH decreases below 5.5, an increasingly greater fraction of the total BC of digesta is used. Therefore, the BC of feeds and ruminal digesta are very important for stabilizing ruminal pH. Maintaining ruminal digesta pool will likely be of special importance during the periparturient period and other occurrences of low feed intake so that the buffering capacity of digesta is maintained.

Absorption The rumen is the major site of VFA absorption and absorbed molecules are predominately in the undissociated form (Ash and Dobson, 1963). Therefore VFA absorption results in the net removal of hydrogen ions from the rumen. Rate of absorption of VFA is dependent on the absorptive surface area, pH, and the concentration gradient across the rumen epithelium. Absorptive surface area is a function of rumen size, degree of fill (Djikstra *et al.*, 1995), and papillae surface area (Dirksen *et al.*, 1985). In addition, parakeratosis reduces effective surface area for absorption; acidosis can have cumulative effects, diminishing surface area for absorption and increasing risk for future bouts of acidosis. The adaptive responses of ruminal papillae size to diets varying in ruminally fermented OM has been proposed as an important factor affecting the susceptibility of some animals to ruminal acidosis (Dirksen *et al.*, 1985). Surface area of ruminal papillae is affected by diet (Dirksen *et al.*, 1985; Xu and Allen, 1999) and offering high roughage diets during the dry period might decrease papillae surface area enough to decrease rate of VFA absorption. However, in practice, papillae surface area might not limit rate of VFA absorption of transition cows. Fermentability of diets commonly recommended for dry cows, particularly those prior to parturition, is likely adequate to maintain absorptive surface area. Also, absorption rate displays a diminishing response to surface area as surface area increases (Xu and Allen, 1999). In addition, relationships observed between papillae surface area and rate of VFA absorption through the transition period is confounded by other factors such as concentration gradient and ruminal pH, making it difficult to assess the importance of adapting ruminal papillae prior to parturition.

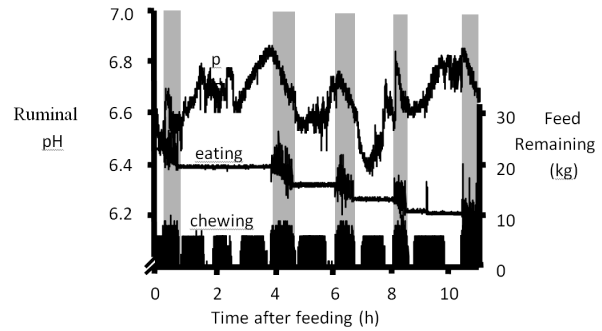


Figure 2. The relationship among ruminal pH, meals, and chewing activity for one cow fed a 35% NDF diet twice daily. Ruminal pH is represented by the top line. The weight of the feed remaining was measured by a manger suspended from a load cell and is represented by the middle line. Meals are represented by the vertical bars. Increases in feed remaining that were recorded during eating bouts were due to downward pressure applied by the cow on the manger. Chewing activity is represented by the bottom line. Because many points are represented, chewing activity appears as blocks of eating and ruminating bouts. Ruminal pH decreased rapidly following meals and increased rapidly during rumination. From Allen (1997).

Effects of pH on fractional absorption rates of acetic, propionic, and butyric acids were reported by Dijkstra *et al.* (1993) using evacuated and washed rumens. Rates of absorption were similar among the VFA at pH 7.2, but as pH was reduced to 4.5, rate of absorption nearly tripled for butyrate, nearly doubled for propionate, and was not affected for acetate. Because they have similar acid dissociation constants with similar fractions in the unionized form, the differences in absorption rates are probably due to different concentration gradients cause by metabolism in the ruminal epithelium (Dijkstra *et al.*, 1993). Butyrate is extensively metabolized by the ruminal epithelium, followed by propionate, but acetate is metabolized to a much lesser extent (Sander *et al.*, 1959). Fermentation acids are absorbed by passive diffusion from high concentrations inside the rumen to lower concentrations in the epithelial cells; therefore factors that increase VFA concentration at the epithelial border inside the rumen and decrease the concentration inside the cells are expected to increase the rate of absorption. *Concentration gradient might be a major factor affecting rate of VFA absorption from the rumen and therefore ruminal pH.*

Because VFA are absorbed primarily in the undissociated state, and because a larger proportion of VFA exist in that form at lower pH, it is expected that fractional rate of absorption increases as pH decreases. While this has been shown using evacuated

and washed rumens (Dijkstra *et al.*, 1993), it might not be the case in practice. The washed rumen technique maximizes the concentration gradient, decreasing the intracellular concentration of VFA because of removal of the rumen contents and increasing the concentration at the epithelial border inside the rumen because the solutions of VFA added are easily mixed. We developed a method to measure relative rate of VFA absorption that does not require rumen evacuation, by pulse dosing valerate and a liquid marker (Co EDTA) and calculating rate of absorption as the rate of change of the ratio of valerate concentration to cobalt concentration (Allen *et al.*, 2000). Using this technique, we found that rate of absorption of valerate ranged from ~20 to 60 %/h (Voelker and Allen, 2003) and was the primary factor related to VFA concentration in the rumen which ranged from ~125 to 155 mM. As expected, ruminal VFA concentration was negatively correlated with both valerate absorption rate ($r^2 = 0.48$; $P < 0.001$) and liquid passage rate ($r^2 = 0.24$; $P < 0.01$); 72% of variation in ruminal VFA concentration was accounted for by the combined rates of valerate absorption and liquid passage.

We reported that rate of VFA absorption was slower, not higher, under lower ruminal pH (Voelker and Allen, 2003); this contradicts data obtained using washed rumens. Although rumen motility was not measured in our study, valerate absorption rate increased with greater passage rate of indigestible NDF, and tended to increase with greater liquid passage rate, both of which might be indicators of rumen motility. Furthermore, rate of indigestible NDF passage decreased as ruminal pH decreased. Slower valerate absorption at lower pH was verified in another recent study from our laboratory (Taylor and Allen, unpublished). *This is additional evidence that concentration gradient might be a dominant factor affecting rate of VFA absorption and therefore ruminal pH.* Ruminal motility affects rate of absorption because constant mixing of ruminal contents is needed to maintain VFA concentrations at the ruminal epithelium where absorption occurs. Ruminal contractions are inhibited at low ruminal pH (Shinozaki, 1959), decreasing mixing and rate of VFA absorption and decreasing pH further. Stimulation of ruminal contractions by physically effective fiber is expected to increase mixing and rate of VFA absorption. Diets that provide more consistent rumen fill over time in animals prone to drastically reduced feed intake (periparturient or early lactation animals) might reduce the occurrence of subacute acidosis upon refeeding by continuing to stimulate ruminal motility in spite of low feed intake and by maintaining buffering capacity of ruminal digesta. Another factor that might be related to concentration gradient is milk yield; Voelker and Allen (2003) reported a positive relationship between valerate absorption rate and FCM yield of cows ($R = 0.49$, $P < 0.01$). Cows with high milk yield have greater blood flow and a greater ability to metabolize absorbed VFA, which will decrease their concentrations in the blood, increasing the concentration gradient from the rumen to the blood. Greater ruminal motility is also expected to increase blood flow to the rumen and utilization of VFA within ruminal tissue, further increasing the concentration gradient and absorption rate for VFA.

Because more than 50% of acid produced in the rumen is removed by absorption across the rumen wall (Allen, 1997), maximizing and maintaining VFA absorption rate should be a primary strategy for stabilizing ruminal pH. Promoting ruminal motility and maintaining the concentration gradient across the rumen wall should contribute to this process. Physically effective fiber, especially from forages, should prevent acidosis and reduce fluctuations in pH not only by stimulating chewing and salivary buffer flow but also by maintaining the ruminal digesta pool and promoting ruminal motility. Forage fiber promotes mat formation and feed particle retention, which maintains a more constant supply of VFA and should reduce fluctuations in ruminal pH. However, the need for fiber to promote rumination, ruminal motility, and digesta retention must be balanced against its potential to limit feed intake due to ruminal filling effects (Allen, 2000). Using forage fiber to maintain ruminal digesta pool will be especially important when depressed feed intake is expected and when feed intake is unlikely to be limited by filling effects, such as immediately before and after calving.

CONCLUSIONS

Ruminal pH is a function of the rates of VFA production and absorption, and of hydrogen ion passage, neutralization, and buffering. Diets and feeding systems should be designed to provide highly fermentable diets while limiting variation in ruminal pH. Important diet characteristics affecting acid production, buffering, and absorption are fermentability and coarseness of fiber; highly fermentable feeds should be limited while adequate effective fiber should be provided. The concentration gradient across the ruminal epithelium probably has a great effect on rate of VFA absorption and is affected by rumen motility, ruminal pH, blood flow, and possibly by milk yield. This emphasizes the importance of physically effective fiber to maintain digesta pool size in order to provide adequate buffering by ruminal digesta, stimulate rumination and salivary buffer flow, and promote motility to enhance VFA absorption.

REFERENCES

- Allen, M. S. 1995. Model of hydrogen flow through the reticulorumen. Proc. XXIII Biannual Rumen Function Conference, Chicago, IL.
- Allen, M. S. 1997. Relationship between ruminal fermentation and the requirement for physically effective fiber. J. Dairy Sci. 80:1447-1462.
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598-1624.
- Allen, M. S., L. E. Armentano, M. N. Pereira, and Y. Ying. 2000. Method to measure fractional rate of volatile fatty acid absorption from the rumen. Abstracts Conference on Rumen Function 25:24, Chicago, IL, Nov. 14-16, 2000, Department of Animal Science, M ichigan State University, East Lansing, http://www.msu.edu/user/rumen/index.htm
- Ash, R. W. 1959. Inhibition and excitation of reticulo-rumen contractions following the introduction of acids into the rumen and abomasum. J. Physiol. 169:39.
- Ash, R. W. and A. Dobson. 1963. The effect of absorption on the acidity of rumen contents. J. Phsiol. 169:39.
- Bailey, C. B. and C. C. Balch, 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Br. J. Nutr. 15:383.
- Benson, J. A., Reynolds, C. K., Aikman, P. C., Lupoli, B. & Beever, D. E. (2002) Effects of abomasal vegetable oil infusion on splanchnic nutrient metabolism in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 85: 1804-1814.
- Cassida, K. A. and M. R. Stokes. 1986. Eating and resting salivation in early lactation dairy cows. J. Dairy Sci., 69: 1282.
- Counotte, G. M. H., and R. A. Prins. 1981. Regulation of

lactate metabolism in the rumen. Vet. Res. Communic. 5:101.

- Dado, R. G., and M. S. Allen. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber or inert bulk. J. Dairy Sci. 78:118.
- Dijkstra, J., H. Boer, J. van Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. Br. J. Nutr. 69:385.
- Dirksen, G. U., H. G. Liebich, and E. Mayer. 1985. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. Bovine Pract. 20:116.
- Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review. J. Dairy Sci., 71:3246.
- Gill, M., R. C. Siddons, and D. E. Beever. 1986. Metabolism of lactic acid isomers in the rumen of silage-fed sheep. 55:399.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci., 69:2755.
- Jasaitis, D. K., J. E. Wohlt, and J. L. Evans. 1987. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. J. Dairy Sci. 70:1391.
- Knowlton, K. F., M. S. Allen, and P. S. Erickson. 1996. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 2. Effect on ruminal measurements and feeding behavior. J. Dairy Sci. 79:565.
- Mackie, R. I., and F. M. C. Gilchrist. 1979. Change in lactate producing and lactate utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high concentrate diet. Applied and Environ. Micro. 38:422.
- Nocek, J. E., and J. B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71:2070.
- Nocek, J. E., and S. Tamminga. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 74:3598.
- 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.
- Oba, M. and M. S. Allen. 2003. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. J. Dairy Sci. 86:174-183.
- Russell, J. B. 2002. Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition, Department of Microbiology, 157 Wing Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.
- Russell, J. B. and M. S. Allen. 1983. Physiological basis for interactions among rumen bacteria: Streptococcus bovis and Megasphaera elsdenii as a model. Page 239 *in:* Current perspectives in microbial ecology. M. J. Klug and C. A. Reddy, ed. Am. Soc. for Microbiol., Washington, DC.
- Sander, E. G., R. G. Warner, H. N. Harrison, and J. K. Loosli. 1959. The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of the rumen mucosa in the young calf. J. Dairy Sci. 42:1600-1605.
- Shinozaki, K. 1959. Studies on experimental bloat in ruminants. 5. Effects of various volatile fatty acids introduced into the rumen on the rumen motility. Tohoku J. Agric. Res. 9:237.
- Terry, R. A., J. M. A. Tilley, and G. E. Outen. 1969. Effect of pH on the cellulose digestion under in vitro conditions. J. Sci. Food Agric. 20:317. Voelker, J.A. and M.S. Allen. 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. Effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. . 86:3562-3570.
- Xu, J. and M. S. Allen. 1999. Effects of dietary lactose compared with ground corn grain on the growth rate of ruminal papillae and rate of valerate absorption from the rumen. S. Afr. J. Anim. Sci. 29(ISRP2).

¿POR QUÉ ES IMPORTANTE LA MADUREZ DE LAS NOVILLAS? ANÁLISIS PRÁCTICO DE LOS DATOS DE GRANJA

Gavin P. Staley

Technical Services, Diamond V, gstaley@diamondv.com

La crianza de novillas no ha recibido la prioridad debida en comparación con otras áreas de la producción lechera. Tradicionalmente, el proceso de criar a las novillas de reemplazo se ha enfocado a mantener un bajo coste, con poco o nulo interés en el seguimiento a los parámetros de crecimiento; en cambio, el objetivo se ha dirigido a reducir la mortandad como lo más importante. Parece haber, efectivamente y al margen del proceso, una creencia permanente de que las novillas recuperarán su crecimiento de alguna manera adecuada y sin excepción. Además, recientemente, ha habido una tendencia a inseminar a las novillas en forma temprana, para que inicien su producción anticipadamente y, a la vez, se reduzca tanto el costo como el inventario de los reemplazos. Desafortunadamente se ha hecho poco para modificar la crianza y ajustarse a dichos cambios en el manejo. Esto ha llevado a encontrar un impacto negativo a largo plazo en muchas granjas.

La hipótesis de esta presentación es que las novillas necesitan alcanzar la madurez para poder expresar completamente su potencial genético durante su vida productiva. La madurez al parto se define como una primeriza que pesa aproximadamente un 95% de su peso a edad madura (PEM). Este número proviene del estándar en la industria lechera en el que una novilla recién parida pesa un 85% de su PEM. Después de haber tomado en cuenta el peso del ternero, la placenta y los fluidos se ha determinado la proporción de 95%. Esta relación puede ser calculada fácilmente en la granja mediante el pesaje individual de novillas gestantes y de vacas adultas. Es importante resaltar que el objetivo es lograr el desarrollo de un animal con buena conformación y no solamente alcanzar un peso determinado.

Mediante la evaluación de registros en granjas comerciales, se han identificado varios puntos clave que sostienen la observación de que la productividad de la novilla es crucial para la del rebaño en su conjunto. Existe además la acumulada evidencia anecdótica sobre la crianza, la reproducción y las pariciones de animales inmaduros.

Primeramente, se ha observado que la producción promedio anual del rebaño está a menos de un kilogramo de diferencia respecto a la producción en la semana 10 de la primera lactación (en una granja con 38-40% de novillas en primera lactación). La edad relativa del rebaño puede tener una influencia de 1.4-1.8 kg en la producción total; los animales en primera lactación determinan el límite potencial de la producción del rebaño. En segundo lugar, la diferencia en producción de leche entre la primera y segunda lactación a las 5 semanas es de aproximadamente 14 kilogramos (en ganado Holstein); esto conduce a que la producción futura en la segunda lactación puede predecirse a partir de una primera lactación actual. Igualmente, dado que el promedio de lactaciones en los rebaños se acerca a 2.2, tenemos que las primeras dos lactaciones tienen el mayor impacto en la productividad general. En tercer orden, existe un impacto fácilmente demostrable de la edad al parto sobre la producción de leche en las dos primeras lactaciones; las diferencias en la forma de seleccionar novillas para su primera inseminación (talla vs. edad) y las estrategias para el desecho de vacas pueden tener un mayor o menor efecto sobre las curvas de producción.

La recomendación es pesar varias categorías de animales. Primeramente, para determinar el PEM, pesar al menos 30 animales de tercera lactación en adelante, entre 180 y 220 días de lactación; posteriormente, pesar novillas con más de 260 días de preñez y calcular la proporción respecto al PEM. Si las primerizas pesan aproximadamente un 95% del PEM (y no están excedidas en condición corporal), el proceso de crianza estará desarrollando animales al parto a la edad deseada; además, puede asumirse que la edad a la primera inseminación es adecuada. Si la proporción es menor al 95% deseado, se debe plantear ya sea retrasar la edad de inseminación o mejorar el manejo y la nutrición de las novillas para lograr producir animales maduros.

ENGLISH VERSION

Why building a mature heifer matters

Gavin P. Staley

Technical Services, Diamond V

Heifer rearing has not enjoyed the same high priority as most other areas of dairy production. Historically, the process of raising replacement heifers has been “least cost”; with little or no objective focus on monitoring growth parameters. Instead, the focus has largely been to just limit heifer mortality. Indeed, there seems to be a pervading belief that, regardless of the process, heifers will, inevitably and adequately, “catch up”.

Furthermore, in recent years, there has been a trend to breed heifers earlier so that they begin lactation sooner and also, concomitantly, reduce heifer feeding costs and inventory.

Unfortunately, little has been done to change heifer rearing to accommodate these management changes. This has led to a long-term negative impact on many dairies.

The hypothesis in this presentation is that heifers need to be mature in order to fully express genetic potential during their productive lifetime. Maturity at calving is defined as a springer that weighs approximately 95% of the mature body weight (MBW) of the herd. This figure is obtained by working on the dairy industry standard of a fresh heifer weighing 85% of MBW.

After accounting for the calf, placenta and fetal fluids a figure of 95% is determined. This relationship on a dairy can easily be calculated by weighing springers and mature cows. It is important to add that the goal is a well-framed animal and not just weight per se.

An evaluation of field dairy records has identified several key factors that support the observation that heifer performance is critical to the overall herd performance. Furthermore there is anecdotal evidence that many diaries are raising, breeding and calving immature animals.

The first observation is that annual average milk production for the entire herd is within 1-2 pounds of the 10 week milk of

lactation=1 animals (in a herd with 38-40% lactation =1). The relative age of the herd can influence the overall milk production by 3-4 # milk. Lactation =1 animals set the “ceiling” for the entire herd. Secondly, the milk production difference between lactation =1 and 2 at 5 weeks of lactation is 30 pounds of milk (Holsteins). This suggests that lactation=2 future production can be predicted by current lactation =1 production. Also, since the

average lactation of dairy herds is around 2.2 lactations it follows that the first two lactations have the most impact on overall milk production. Thirdly, there is an easily demonstrated impact of age at calving (AGEFR) on the milk production of lactation’s 1 and 2. Differences in how virgin heifers are selected for breeding (size versus age) and herd culling strategies can impact the production curves to a greater or lesser extent.

Recommendation is to weigh several categories of animals. Firstly, to determine MBW, weigh at least 30 animals that are Lactation=3 plus between 80-120 DIM. Secondly, weigh springers (DCC>260) and calculate the ratio. If springers are around 95% of MBW (and NOT over-conditioned) the heifer rearing process is delivering a mature animal at the AGEFR chosen. Furthermore, it is reasonable to assume the age at breeding of heifers is appropriate. If this ratio is less tan desired, the discussion leads to either delaying age at heifer breeding or improving the heifer management and nutrition so that a mature animal is created.

Biographical sketch Gavin Staley received his veterinary degree from the University of Pretoria, South Africa in 1984. After two years of compulsory military service in the SANDF he returned to the University of Pretoria as a lecturer in the Dept. of Theriogenology. He obtained a MMedVet (Therio) degree in 1989. He received the student nominated Lecturer of the Year and Clinician of the Year awards while on faculty. In 1991 joined the largest private practice in South Africa as a large animal clinician. Emigrated with his family to the USA in 1998 and practiced as a dairy clinician in Door County, Wisconsin.

During this time was awarded the status of Diplomat in the American College of Theriogenologists. In 2003 joined industry as a technical services veterinarian with Monsanto in California.

Has resided in Turlock in the Central Valley of California for past 14 years. Main focus is dairy record evaluation and various facets of consultation on large western herds. International visits to Africa, India and China.

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO Y CONSIDERACIONES DE GESTIÓN DE ESTABLOS CON ENCAMADO DE COMPOST

Dr. Jeffrey Bewley

Administrador de Soporte BoviSync, Jbewley@bovisync.com
Consultor, Alojamiento enfocado a las vacas, Jbewley@cowfocused.com

INTRODUCCIÓN

El establo con encamado de compost (Compost Bedded Pack Barn) es un sistema de estabulado para vacas lecheras que consta de una zona amplia y abierta de descanso, generalmente con un encamado de serrín o virutas finas y secas de madera con los que se forma un compost que se mezcla con el estiércol y que se remueve mecánicamente con regularidad. El factor más importante de éxito en la gestión de un establo con encamado de compost es asegurar una superficie cómoda y seca para las vacas lactantes en todo momento. Según los productores, las ventajas de estos establos incluyen una mayor comodidad y limpieza de las vacas, un menor recuento de células somáticas, mejor detección del celo, la facilidad de manejo del estiércol, mayor producción, un aumento de longevidad, bajos costes de inversión, menos olor, menor número de moscas, menor preocupación por el tamaño de las vacas, y mejor valor del estiércol.

El concepto general en la formación de compost es la mezcla de una fuente de carbono (cama) con un material orgánico con alto contenido de nitrógeno (estiércol/orina), a la vez que se crean unas condiciones (porosidad) que aseguran la entrada de aire y se mantiene el nivel de humedad para conseguir una descomposición microbiana rápida de la materia orgánica hasta que quede muy poca materia orgánica que se puede degradar de forma sencilla. Es importante señalar que la utilización del compost en un establo donde se añaden continuamente estiércol, orina, y el encamado da como resultado un compost a la hora de su retirada del establo que no está completamente terminado o maduro.

Los establos con encamado de compost pueden ser el estabulado primario en el caso de rebaños pequeños o pueden proporcionar unas necesidades especiales de estabulado en rebaños más grandes. Las vacas se pueden gestionar en un sólo grupo dentro del establo o como múltiples grupos divididos dentro del establo. Estos establos se gestionan intensivamente para fomentar el compostaje del estiércol y de la materia orgánica, a diferencia del encamado tradicional a base de paja. El compostaje bien hecho aumenta la temperatura del encamado y reduce la humedad del encamado al incrementar la tasa de secado. La parte más importante de la gestión de un establo con encamado de compost es mantener seca la capa superficial del encamado. El encamado de debe remover al menos dos veces al día. Normalmente se remueve cuando las vacas están siendo ordeñadas y se utilizan varios tipos de roto-cultivadores o rotoarados. El diseño de la instalación, la ventilación, el oportuno añadido de encamado fresco y seco, el removido frecuente y a conciencia, y el evitar el hacinamiento son las claves de un establo de encamado de compost que funciona bien. Una gestión y coordinación deficientes de estos factores puede llevar a unas condiciones del encamado de compost poco deseables y resultar en vacas sucias, recuentos altos de células somáticas, y un aumento de casos de mastitis clínico.

LA SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL LUGAR ADECUADO.

Como en cualquier explotación lechera, la selección del emplazamiento es crítica. Para maximizar la ventilación natural, el establo debería estar situado de tal manera que puede sacar provecho de los vientos predominantes en verano y de la orientación con respecto al sol. Se debe tener cuidado para asegurarse de que la explotación está a una distancia suficiente de otros establos, silos, o edificios. La ventilación del establo debe asegurar un suministro de aire fresco ya que el compost genera calor y humedad adicionales, que tienen que eliminarse del establo, si se compara con establos sin estabulado u otros sistemas de encamado, especialmente en el verano. El emplazamiento del establo debe estar en un lugar ligeramente elevado de modo que el drenaje de superficie se desvía alrededor y lejos del edificio para reducir la cantidad de la escorrentía de la lluvia o la nieve que pueda afectar al encamado. Aunque es poco probable que el encamado esté tan mojado que se produzca un drenaje por la parte inferior, la selección de un emplazamiento con el mínimo riesgo medioambiental por posible fuga de líquido desde el encamado también es importante. Los emplazamientos que requieren trabajos de excavación o corte de taludes pueden exponer fuentes de agua subterráneo que afecten al edificio, especialmente en las estaciones húmedas del año. La surgencia de agua por debajo del encamado de compost será un problema que resultará en un mayor nivel de humedad del encamado. Se necesitará un sistema de drenaje para extraer esta agua del emplazamiento. La base del encamado debe ser de arcilla, grava, o cemento. Una base de cemento no tiene ninguna ventaja real, as que las instalaciones nuevas se construyen generalmente con una base de arcilla, que es potencialmente más barato. El cemento o la arcilla pueden reducir las filtraciones del encamado al suelo subyacente. Sin embargo, algunos estados requieren el uso del cemento o de una base compacta equivalente para evitar que se pueda contaminar las aguas subterráneas por filtraciones. Consulte con la agencia estatal correspondiente durante la fase de planificación. Ahora bien, un encamado de compost bien gestionado no producirá filtraciones ya que el contenido húmedo óptimo para un encamado de compost está muy por debajo de la capacidad de retención de agua del material de encamado.

Distribución.

La mayoría de los nuevos establos con encamado de compost construidos, lo son modificando diseños existentes de establos de dos, tres, o cuatro filas con cubículos de madera, metal o aros. Algunos productores incluso han construido sus establos con unas dimensiones que permiten una cierta flexibilidad para convertirlos en establos de estabulación libre posteriormente mediante la introducción de caminos de cemento, plataformas libres, divisores, y abrevaderos. Estos cambios permiten una cierta flexibilidad si los productores deciden que la instalación

no satisface sus necesidades o si unos cambios en el mercado cambia o en el suministro del encamado hacen necesarios algunas modificaciones. Estos diseños consisten en edificios independientes con una zona lateral abierta suficiente y una ventilación apropiada. También se han utilizado las estructuras de aros aunque existen inquietudes acerca de una ventilación adecuada en estas estructuras. La estructura independiente incluye la zona de descanso con encamado de compost y un camino de cemento para acceder a la zona de alimentación y a los abrevaderos. La zona de encamado está rodeada por paredes de 2 a 4 pies de altura, incluyendo una pared que separa la zona de encamado de la zona de los comederos. Un muro de contención de cemento separa la zona de los comederos de la zona encamada, lo cual ayuda a gestionar la humedad del encamado. Además, en el exterior del establo, el muro de contención retiene el encamado dentro del establo. Estas paredes pueden construirse echando el cemento in situ, o mediante paneles de cemento, guardaraíles de las autopistas, o usando paneles de madera. El diseño de las paredes debe tener en cuenta la presión ejercida por el encamado de estiércol. El uso de maquinaria con ruedas sobre el encamado de compost también aumenta la presión que se debe tener en cuenta a la hora de diseñar las paredes. Según aumenta el grosor del encamado, las paredes ya no son barreras y la seguridad de las vacas se convierte en una preocupación. Este riesgo se puede eliminar colocando sobre el muro unas alambradas, cables de acero, cables de alta tensión (una tabla de 4-6 pulgadas debe ser suficiente para que la vaca sepa que ahí hay una verja), barras o planchas de madera. El vallado debe minimizar problemas de un flujo de aire negativo.

Alimento, Agua y Galerías. Para asegurar el rendimiento y la salud óptimos de los animales, la comida y el agua deben ser fácilmente asequibles y disponibles en todo momento en los comederos. Las zonas de los comederos deben situarse dentro del establo o debajo de un techo en el exterior del establo. Sin embargo, son preferibles los comederos dentro del establo para animar una mayor ingesta de comida. Si se utilizan comederos y abrevaderos separados, las vacas van a querer descansar por el camino si la distancia excede los 300 pies. Hay que proveer un mínimo de 24 a 30 pulgadas de espacio de comedero por vaca, 3 pies de perímetro del tanque de agua por cada 15 a 20 vacas, y al menos 2 ubicaciones de agua separadas por cubículo. No reducir el acceso a la comida o al agua para intentar una instalación de bajo coste.

Las zonas de comederos de cemento deben medir de 14 a 16 pies de ancho, con acceso al encamado cada 50 pies y en cada extremo. Generalmente, las vacas utilizarán la zona de descanso proporcionado más eficientemente cuando tienen varios puntos de entrada a lo largo del lado más largo de la zona de descanso rectangular. Si la entrada al establo está en la parte estrecha, con un solo punto de acceso, se puede ir creando una zona húmeda y sucia en la entrada debido al aumento del tráfico de vacas. Además, es menos probable que las vacas se distribuyan por el establo. El pasillo de los comederos, situado en uno de los lados largos del establo o en ambos lados de un estable de alimentación de paso, permite el acceso de las vacas a la comida y al agua sin tener que cubrir largas distancias. Unos ventiladores y rociadores colocados a lo largo de los comederos mejoran la refrigeración de las vacas y anima a una mayor ingesta de alimentos. Como las vacas defecan y orinan más frecuentemente cerca de la comida y el agua, solo deben tener acceso a los abrevaderos en el lado del pasillo. Este acceso limitado al pasillo minimiza el exceso de humedad del encamado y mantiene el agua más limpia. También elimina la necesidad de modificar la altura de los abrevaderos según va cambiando el grosor del encamado.

El estiércol y la orina en el pasillo de los comederos debe eliminarse a diario y puede que tenga que ser tratado como un líquido, de manera separada del compost. El estiércol líquido requiere de su propia zona de almacenamiento. Otra opción es usar un suelo con ranuras en el pasillo de los comederos con una zona de almacenamiento de estiércol debajo. Consultar las agencias medioambientales de su región antes de comenzar la construcción para obtener información sobre las estructuras de almacenado de estiércol y otros requisitos.

El tamaño de la zona de encamado de compost

En primer lugar, uno tiene que decidir cuánto espacio debe asignar a cada animal. En general, la zona de encamado debe medir al menos 100 pies cuadrados de espacio de descanso por vaca (85 pies cuadrados en el caso de vacas Jersey). La zona de encamado debe incrementarse en 10 pies cuadrados por cada 25 libras/día de incremento de producción de leche que excede los 50 libras/día ya que estas vacas producirán más orina y estiércol dado que ingieren más alimento y agua. En instalaciones para vacas con necesidades especiales, los productores deben proporcionar 125 pies cuadrados de especio de descanso.

En un establo abarrotado, el encamado se puede volver demasiado húmedo, las vacas pueden estar sucias, y puede haber un recuento de células somáticas por las siguientes razones:

- El estiércol y la orina que llega al encamado va en aumento, lo que provoca que el nivel de humedad del encamado se eleve a niveles excesivos y el proceso de compostaje se ralentizará considerablemente.
- La compactación física del material de encamado aumenta, lo que reduce el flujo de aire.
- La cantidad de contaminación fecal (non-ag Strep y coliformes) en la zona de descanso aumenta debido al aumento de la cantidad de estiércol, lo que puede llevar a una incidencia mayor de mastitis ambiental.

Ventilación Natural

La ventilación adecuada es esencial. Sin embargo, la ventilación tiene que variar entre las temperaturas frías y calientes lo que requiere unas compensaciones en la ventilación (es decir, muy abierto en el verano y abierto con cortinas en el invierno). La ventilación elimina el calor y la humedad creada por las vacas y el exceso de calor y humedad creados por el proceso de compostaje. Una adecuada ventilación natural por lo general incluye el movimiento del aire por el establo, pero también se puede usar una ventilación mecánica, mediante ventiladores. La circulación mecánica del aire dentro del edificio evita zonas de aire estancado. La ventilación adecuada puede mejorar la salud general de las vacas y su inmunidad al controlar el polvo y las partículas finas que pueden conducir a problemas respiratorios; puede refrigerar a las vacas en el verano, y secar la superficie del encamado (lo que ayuda a mantener a las vacas limpias).

Se deben construir las paredes laterales de tal manera que permitan por lo menos 12 pies de espacio abierto para el flujo de aire por encima del muro de retención o el muro en establos que tienen una achura de menos de 40 pies, mientras que se recomienda una altura de 14 pies en los establos que son más anchos de 40 pies. Por ejemplo, si un establo tiene una anchura de 40 pies y un muro de hormigón de 4 pies, la altura total de la pared lateral debe ser de 16 pies. Para mantener una adecuada

ventilación natural en condiciones climáticas de mucho calor, el espacio abierto total en la pared lateral a barlovento de un establo debe tener al menos 7 pies2/vaca con el objetivo de 11 ft2/vaca. El objetivo en relación a la superficie de un muro lateral de un establo con encamado de compost debe ser de 11 pies2/vaca ya que el material del encamado está en proceso de compostaje lo que produce un calor y humedad adicionales al producido por las vacas. Los establos cerrados no permiten la correcta ventilación de las vacas y del encamado.

Los aleros voladizos deben ser iguales a 1/3 de la altura del muro lateral para minimizar la cantidad de lluvia que puede alcanzar el encamado y se deben instalar canaletas en el tejado para reducir la cantidad de agua que puede llegar al encamado desde el tejado por los efectos del viento.

Las cortinas laterales ayudan a minimizar los efectos de los vientos del invierno y las inclemencias del tiempo sobre la temperatura del compost. Una ventilación excesiva en el invierno a través de los muros laterales abiertos aumenta la evaporación de la humedad del encamado de compost, causando el enfriamiento del encamado y una pérdida de calor que tal vez no pueda ser compensada por la generación de calor del compost. Esta perspectiva es diferente de la que se utiliza en el compostaje en hileras en el exterior. El encamado de compost tiene una mayor superficie en relación a la generación de calor en comparación con los las hileras exteriores de compost. Las cortinas de los muros laterales deben mantener una mínima apertura por debajo el alero de la mitad de la apertura total para evitar que la cuadra se convierta en un “establo caliente” en el invierno, lo que conlleva altos niveles de condensación, niebla, amoníaco, y neumonía bovina. Unas persianas pueden ser beneficiosas para fomentar la distribución de las vacas dentro de la cuadra.

La inclinación del tejado del establo de menos de 4:12 limitará la velocidad de ventilación natural por vaca. La estructura de la inclinación del tejado afecta a la ventilación natural. Un techo demasiado plano sobre un establo muy ancho limita la tasa de ventilación natural y facilita que se bolsas de aire húmedo y caliente puedan quedar atrapados. Este es un problema serio cuando el aire húmedo y caliente queda atrapado contra las superficies de un tejado frío durante condiciones climáticas invernales (Stowell et al., 1998).

Una orientación este-oeste del establo aprovecha los vientos predominantes del verano austral y reduce la cantidad de luz del atardecer que entra en el establo. Esta orientación también minimiza el porcentaje de la luz del sol que llega a las vacas en el encamado o en el pasillo de los comedores. Los vientos predominantes pueden ser regionales o específicos al lugar debido al terreno local y a la position del establo sobre el terreno. En estas situaciones, el establo se debe orientar idealmente, desde un punto de vista de la ventilación, de modo que los vientos predominantes del verano lleguen perpendiculares a la pared longitudinal si es posible. Puede que se haga necesario extender el alero del tejado para reducir la cantidad de luz del atardecer que entra en el establo.

Se recomienda una abertura de al menos 3 pulgadas por cada 10 pies de anchura del tejado del edificio, con una apertura mínima de 12 pulgadas en el caso de graneros con un ancho de menos de 40 pies. Generalmente, el aire entra en un establo con encamado de compost por las paredes laterales a barlovento and sale por la abertura del tejado y de la pared a sotavento. Los respiraderos del tejado son más efectivos si los vientos dominantes son perpendiculares a la línea longitudinal del tejado. La orientación debe favorecer la ventilación. Los respiraderos del tejado deben estar orientados de manera que no están perpendiculares a los vientos predominantes del invierno. Se pueden encontrar diseños con aberturas alternos en el tejado en Ridge Openings for Naturally Ventilated Dairy Shelters (McFarland, Graves, Tyson, Wilson. DIP 811, Penn State University, 2007) que abordan el problema de las precipitaciones que pueden entrar a través de las aberturas del tejado. El lugar del establo puede requerir una orientación diferente debido al terreno, el coste de la preparación del lugar para conseguir la mejor orientación, o debido a la existencia de otros edificios. Las desventajas de la orientación de un establo pueden superarse con el diseño del piso y la extensión del alero para reducir la penetración de la luz solar y con una ventilación mecánica para contrarrestar la limitada ventilación natural.

Ventiladores

Los ventiladores (de techo o big box) son recomendables para ayudar a mantener el encamado seco y asegurar una adecuada velocidad del flujo de aire en todo el establo. Muchas explotaciones han instalado ventiladores de techo de alto volumen/baja velocidad en los establos con encamado de compost y parecen funcionar bien. Cuando se instalan ventiladores, es importante asegurarse de que hay suficiente altura para que las máquinas de labranza puedan trabajar debajo de ellas con el grosor máxima del encamado y que las aspas de los ventiladores no dañen el armazón del establo.

Si no hay ventiladores en el estable, las vacas podrían congregarse en las zonas donde hay mayor flujo de aire natural cuando hace mucho calor. Petzen et al. (2009) informó que las vacas se congregan en el centro de un establo cuando la temperatura supera los 80°F. La congregación de los animales en una zona conlleva una excesiva acumulación de estiércol y orina y un proceso de compostaje ineficaz debido a la alta humedad.

El Proceso del Compostaje

El compostaje requiere de microorganismos aerobios que descompongan la materia orgánica y produzcan dióxido de carbono, agua y calor. En un establo con encamado de compost, el estiércol y la orina producido por el ganado, junto con el encamado, proporcionan los nutrientes esenciales (carbono, nitrógeno, humedad y microorganismos) necesarios para el proceso de compostaje.

El compostaje es un proceso aeróbico. La continua introducción de oxígeno (aire), carbono y nitrógeno (mediante el estiércol) y el control de la humedad (nueva capa de encamado) son necesarios para el éxito. En un establo con encamado de compost, el oxígeno proviene de agitar (airear) el encamado y del aire que se filtra en la superficie del encamado, que debe ser esponjoso para favorecer la infiltración del aire. El comportamiento del encamado de compost depende de que se mantenga el adecuado equilibrio entre el carbono, el nitrógeno, el oxígeno, la humedad, la temperatura y la actividad microbiana. Cuando la proporción del encamado, la densidad de la población de vacas, el oxígeno y la humedad están perfectamente equilibrados, la población de microorganismos puede prosperar y producir el calor suficiente para secar el encamado y mantener a las bacterias aeróbicas activas para continuar con el proceso de compostaje. Esto puede resultar en la reducción de patógenos, de larvas de moscas, y de semillas malas hierbas. Cuando el encamado de compost está funcionando bien, la superficie estará seca y esponjosa. Sin embargo, cuando el encamado no está funcionando bien, la superficie aparece húmeda y gruesa.

La temperatura del encamado proporciona una buena indicación del nivel de actividad microbiana. Las temperaturas cercanas a la superficie del paquete se aproximan más a la temperatura del aire porque la humedad, la evaporación, y el movimiento del aire disipan el calor. Sin embargo, la temperatura del encamado de compost debajo de una vaca recostada aumentará. La temperatura ideal del encamado que se debe buscar, medido a una profundidad de aproximadamente 6-12 pulgadas, es de entre 110 y 140° F. Cuando la temperatura supera los 150 ° F, las temperaturas de superficie pueden aumentar hasta el punto en que las vacas no quieran acostarse en el encamado. Una temperatura en ese rango indica que los materiales orgánicos se están descomponiendo rápidamente. Cuando la temperatura es inferior, el proceso de compostaje es demasiado lento, y a menudo esto es debido a una insuficiencia de oxígeno al remover el encamado, una humedad muy elevada, o una pérdida considerable de calor durante el invierno. Cuando supera este rango, las bacterias aeróbicas beneficiosas mueren.

Las temperaturas pueden medirse con un termómetro de cocina largo. Si no se tiene un termómetro, se puede tocar el material (a 12 pulgadas debajo de la superficie) con las manos desnudas. Si el encamado está caliente casi hasta el punto que no deseas tocarlo, la temperatura es probablemente lo suficientemente alta (> 110 °F). Especialmente por las mañanas, si el compost se está calentando correctamente puede incluso producir vapor.

El estiércol, la orina y la actividad microbiana producen la humedad del encamado que idealmente deberían estar entre 45 -55%, sin embargo, un rango operativo que aún pueden generar una actividad importante para el éxito es entre el 40% y el 60%. Cuando la humedad es demasiado baja, los microbios no dispondrán de agua suficiente, y el compost se enfriará demasiado, resultando en una velocidad de compostaje demasiado lento. Si el nivel de humedad es demasiado alto, el encamado se convierte en anaeróbico (falta de oxígeno); la velocidad de descomposición microbial disminuirá; y, de nuevo, el compostaje y la generación de calor será demasiado bajo.

Una simple prueba de humedad puede ser coger un puñado del encamado y exprimirlo. Si sale agua o si caen gotas de agua, o si gotas de agua se forman en la superficie al exprimir el encamado, es que está demasiado húmeda. Este es un signo de que se debe añadir más encamado seco. Si no se puede formar una bola, el encamado está demasiado seco. Esto puede ocurrir cuando se añade encamado nuevo con demasiada frecuencia. Cuando el encamado está funcionando bien, el material aparecerá suelto y esponjoso, no compactado y grueso.

En general, las temperaturas son más elevadas cuando el encamado está esponjoso porque el aire promueve la actividad microbiana. Cuando el encamado está compactado y tiene una humedad excesiva, la temperatura se reducirá. Además, cuando la humedad es excesiva, el encamado y el estiércol se adhieren con más facilidad a la piel y a las ubres de las vacas.

Unas temperaturas excesivamente altas en el encamado de compost (más de 150° F) se producen cuando existe una alta actividad microbiana debido a la presencia de materia orgánica fácilmente digerible y cuando la humedad está cerca del extremo inferior del rango óptimo. Bajo estas condiciones, el encamado no tiene suficiente agua para su enfriamiento por evaporación. La falta de agua puede ocurrir cuando hay una baja densidad de vacas, cuando el movimiento de aire seca el encamado demasiado rápidamente, o durante periodos de tiempo cálido y seco.

Idealmente, el ratio C: N para la máxima velocidad de compostaje debe estar entre 25:1 y 30:1. El nuevo material de encamado, además de absorber el agua, también ayudará a conseguir esta relación. Si se puede oler amoniaco en el establo, es que el ratio C: N está probablemente por debajo de 25:1.

Las Claves para Gestionar un Establo con Encamado de Compost

Como con cualquier instalación, el éxito de un establo con encamado de compost depende en gran medida de lo bien gestionado que está. El mantener la aireación y la densidad son fundamentales. Cuando se remueve el encamado con frecuencia y de manera uniforme, el estiércol y la orina que hay en la superficie se mezclan con el encamado a la vez que se incorporan el oxígeno y la humedad. El resultado es un mejor sistema de calefacción y de la descomposición aeróbica de la materia orgánica.

El Compost del Principio.

Cuando se aplica un nuevo encamado de compost o después de retirar la existente, se debe comenzar con una profundidad de 1 pie de encamado en el suelo del establo. Dependiendo del tamaño del estable, del número de vacas y de la zona de encamado, puede hacer falta cierta cantidad de serrín para iniciar el encamado. Asegúrese de añadir suficiente serrín para que los equipos de mezcla no lleguen al suelo del establo. El comienzo de la formación de un nuevo encamado debe hacerse cuando se prevé un periodo de 4 a 6 semanas de buen tiempo con máximas generalmente por encima de 50 °F. Idealmente, el nuevo compost debe iniciarse de manera que la tasa de generación de calor alcanza un pico antes de la llegada de las temperaturas que pueden congelar el encamado en cualquier parte del granero. Si no se logra un encamado en proceso de compostaje activo al llegar el invierno, la generación de calor puede resultar insuficiente para compensar las pérdidas de calor lo que puede llevar a un rendimiento inadecuado del encamado durante el todo el invierno.

Retirada del Compost.

La zona del encamado se retira generalmente en el otoño o primavera, y se echa el encamado usado a la tierra de cultivo. Algunos productores también retiran en encamado en la primavera lo que permita la máxima retención de nitrógeno para la absorción del cultivo. La profundidad del encamado puede alcanzar los 4 pies antes de la retirada, en función de la cantidad de serrín usado y de la intensidad del proceso de compostaje. La mayoría de los productores vuelven a utilizar de 6 a 12 pulgadas del material viejo para ayudar a iniciar la actividad microbiana en el nuevo encamado. Si es posible conservar la capa superior del encamado viejo, esta zona es la más activa con microorganismos aclimatados para continuar el proceso de compostaje en el nuevo encamado. Algunos productores innovadores siguen con el compostaje al apilar el compost después de retirarlo del establo. Remueven este material para acelerar el secado y luego lo vuelven a utilizar como producto seco en el encamado junto con el nuevo serrín para estirar las existencias de serrín y para dar un buen comienzo al proceso de compostaje. Se deben analizar unas muestras del compost para ver su valor como fertilizante y registrarlos para los planes de gestión del estiércol. Alternativamente, se puede retirar el encamado del establo, seguir con el proceso para producir un compost terminado, y venderlo.

REMOVIENDO/AIREANDO EL ENCAMADO DE COMPOST. Al remover y mezclar uniformemente el encamado, se crea una superficie suave, limpio y seco sobre la cual las vacas se pueden tumbar. Airear el encamado de compost hasta una profundidad de al menos 12 pulgadas. El removido profundo periódico, de hasta 18 pulgadas, con un arado de cinceles reduce la cantidad

de encamado que se necesita y hace aumentar las temperaturas del encamado. Algunos productores aran el encamado dos veces cada vez que lo remueven, tanto en sentido longitudinal como transversal, para aumentar aún más la aireación. Remover el encamado durante cada ordeño, mientras las vacas están fuera del establo. No sólo es más fácil removerlo cuando las vacas no están en el establo, también se reducen las posibilidades de que el polvo creado al removerlo puedan causar problemas respiratorios a las vacas. La persona que realiza la operación debe considerar el uso de una máscara para evitar problemas respiratorios. Si es posible, las vacas deben mantenerse fuera del encamado durante al menos una hora después de remover, para permitir que la capa superior se seque (especialmente durante el invierno). El uso de ventiladores después de remover el encamado ayuda a secar la superficie durante todo el año, no sólo durante las condiciones más cálidas. La mayoría de los productores empiezan a removerlo alrededor de un día después de que se agrega serrín nuevo al encamado.

Equipamiento

Se utilizan una variedad de métodos para remover el encamado. La mayoría de los productores utilizan un cultivador, palas de dientes, o un roto-arado acoplado a un tractor pequeño o a una minicargadora. Es importante deshacer las huellas del tractor colocando unas herramientas para remover la tierra detrás de las ruedas. Si se utiliza equipo pesado, no será posible deshacer las huellas de las ruedas. Además, si el encamado está demasiado húmedo, se puede compactar demasiado, lo cual reduce la cantidad de oxígeno y la bajada de la temperatura. La compactación también hace aumentar el nivel de humedad y empeora la aireación.

Añadiendo Material de Encamado.

Utilice la prueba de humedad - coge un puñado del encamado y exprímalo. Si puedes formar una pelota compacta, o si sale agua o si caen gotas de agua, o si gotas de agua se forman en la superficie al exprimir el encamado, es que está demasiado húmedo. El encamado nuevo (de 4 a 8 pulgadas) se añade antes de que la humedad aumenta hasta el punto de poder formar una bola compacta. Si esperas a que el material empiece a pegarse será demasiado tarde. La frecuencia con que se añade encamado depende de la cantidad de evaporación que ocurre, de cuánto estiércol y orina se añade, de la estación del año, de la temperatura ambiente y de la humedad ambiental. Generalmente, se añade encamado nuevo cada una a seis semanas. Algunos productores añaden pequeñas cantidades de encamado con más frecuencia. Se puede utilizar más encamado cuando el tiempo está más húmedo o mojado, o si el establo está abarrotado. Si se utiliza el serrín verde, se necesitará más cantidad de encamado ya que no absorbe tanta humedad como el serrín secado en un horno.

El control de la humedad del encamado manteniéndolo dentro del rango del 40-60% y el remover el encamado dos veces al día son aspectos críticos para el éxito. El encamado de compost puede desequilibrarse si uno no es capaz de reconocer unas condiciones de humedad incorrectas antes de que empieza a bajar la temperatura, la salud de las vacas se puede deteriorar y aumenta el riesgo de mastitis ambiental. El control de la humedad se basa en reconocer el nivel de humedad utilizando lo prueba manual de apretar el material; entonces se responde añadiendo más encamado, reduciendo el número de vacas, e incrementando el removido para mejorar el secado y la aireación.

Material de Encamado

Los investigadores de Minnesota y los productores lecheros sugieren virutas de madera secas y finas o serrín, preferentemente de pino u otras maderas de coníferas, como el material en los establos de encamado de compost. La madera astillada es menos deseable. La madera astillada utilizando cuchillas tiene superficies suaves que contienen menos agua que la madera aserrada o martilleada que tiene unas superficies irregulares. La madera astillada con mayales o martillos puede tener bordes afilados, como los palillos, que pueden dañar a las vacas. El serrín secado en hornos es el producto preferido, pero el encamado funcionará bien siempre que el contenido de humedad del serrín sea inferior al 18% cuando se añade al encamado de compost. El serrín verde generalmente está húmedo y puede albergar bacterias Klebsiella. Si se usa serrín verde, la cantidad a utilizar será mayor que en el caso de serrín secado en un horno porque su mayor contenido de agua reduce la cantidad de agua puede absorber. El cedro debe evitarse porque contiene aceites y materias orgánicas que inhiben la actividad microbiana necesaria para el compostaje. El nogal negro ha demostrado causar laminitis en los caballos, aunque no hay ninguna investigación para apoyar este resultado en el ganado lechero.

El tamaño de las partículas del encamado es particularmente importante para regular el acceso microbiano a su fuente de alimentación - el estiércol y la orina. Al mismo tiempo, el alto contenido de lignina de estos materiales de madera ofrece cierta resistencia a la descomposición microbiana, lo que hace que lleve más tiempo. El serrín secado en un horno es un material fino e irregular que proporciona una adecuada relación superficie/volumen, es fácil de remover, y absorbe y retiene los líquidos muy bien. Un material de encamado alternativo con partículas grandes no funciona tan bien y hace falta picarlo muy fino. En los primeros estudios de investigación, funcionaron bien las mazorcas de maíz, la paja de soja, y la paja de lino molido finamente para que pudieran pasar por un colador de 3/4 de pulgada. Se pueden utilizar estos materiales finos en una mezcla con el serrín para aprovechar al máximo los stocks de serrín. Los tallos largos de maíz, la paja de desecho, y el heno de avena, cebada y trigo tienden a retener demasiada agua porque tardan en secar. Además, si la superficie céreo exterior de la paja de trigo se mantiene, se tarda más en absorber el agua y en secarse. Si utiliza estos materiales alternativos de encamado, puede resultarle difícil de remover y airear el encamado, o puede crear una pulpa o fragmentos.

Gestión en el Invierno.

La gestión de los establos con encamado de compost en el invierno es la parte más difícil y requiere mayor cantidad de encamado. En condiciones de congelación, las pilas de estiércol pueden congelarse durante la noche y descongelar durante el día. Cuando los niveles de humedad del encamado superan los niveles aceptables en el invierno, resultando en vacas sucias, muchos productores lecheros alteran su gestión y añaden capas delgadas de encamado fresco con más frecuencia para mantener a las vacas secas y limpias. El consumo de encamado durante el invierno aumenta generalmente de 2 a 3 veces que durante el verano. Como normalmente el serrín está más disponible en los meses de verano, pero se necesita más en los meses de invierno, la construcción de una instalación para el almacenamiento de serrín puede ser útil para gestionar el suministro de serrín.

Los Niveles de Patógenos.

Aun cuando el proceso de compostaje funciona bien, los niveles de patógenos en el encamado de compost son altos. La investigación de Minnesota mostró grandes cantidades

(9,122,700 células/cc) de agentes patógenos causantes de la mastitis en la superficie del encamado de compost, incluyendo los coliformes, el Staphylococcus ambiental y los Bacillus (Barberg et al., 2007a). La vacunación de las vacas con una vacuna contra E. coli también puede resultar beneficiosa. Se han expresado algunas preocupaciones acerca del riesgo de problemas respiratorios asociados con el exceso de polvo.

La Agrupación.

En grandes establos con encamado de compost, la agrupación de vacas puede ser necesaria. Los grupos deben estar limitados a 150 vacas. Este establo tenía un muro de hormigón para dividir el establo en dos zonas de gestión. Además, se añadió una pasarela para poder observar a las vacas.

Las Consideraciones Económicas

Antes de construir un establo con encamado de compost, se debe tomar en consideración los costes de construcción además del mantenimiento y encamado anual y la rentabilidad de un nuevo establo. Los costos de construcción varían debido a que los precios del cemento, el acero y la madera fluctúan. La parte del establo que construyes tú mismo y las opciones que añades son factores de costo a considerar. Los costes de construcción de un establo con encamado de compost por vaca son generalmente más bajos que los de un establo libre, a pesar del mayor especio que se necesita por vaca. Se utiliza menos cemento y no hay inversión en particiones de cubículos y bases. Podría costar más si va a construir una instalación de almacenamiento de serrín en la explotación (para asegurar la disponibilidad y para poder comprar cuando los precios son más competitivos).

Si bien la inversión inicial es inferior a la de un establo libre, el mantenimiento anual es normalmente más alto. En el caso de rebaño de 100 vacas, supongamos que se utiliza un camión de serrín (unas 18 toneladas) cada dos a cinco semanas. A estos precios, el encamado habrá costado entre $0.35 a $0.85 por vaca y por día. Los gerentes de establos con encamado de compost también recomiendan limpiar las cortinas de sombra y las entradas de los sistemas de ventilación con frecuencia debido a la cantidad de polvo que se remueve a lo largo de todo el año.

Asimismo, ten en cuenta el costo del manejo de estiércol. Los establos con encamado de compost reducen la cantidad de estiércol almacenado pero se requieren máquinas para manejar el estiércol líquido y seco. Tenga en cuenta que el estiércol seco puede ser más fácil de manejar y no tiene que ser aplicado con tanta frecuencia. Además, el compostaje estabiliza las concentraciones de N, P y K del estiércol. Al almacenar el estiércol dentro del establo, se reduce la cantidad de precipitación que debe ser transportado desde la zona de almacenamiento

Al calcular los costos de mano de obra, suponemos que se necesita de 10 a 15 minutos por cada 100 vacas para remover y raspar el pasillo de alimentación, un trabajo que se hace normalmente dos veces al día durante el ordeño. Para compensar los costos, puedes encontrar un mercado para la venta del compost final.

Las Limitaciones Potenciales

La principal limitación de un establo de encamado de compost es, a fecha de hoy, la disponibilidad de serrín. Estos establos requieren de tres a cuatro veces la cantidad de encamado de un establo libre típico. Durante experimentos en explotaciones, los materiales alternativos no han funcionado tan bien como el serrín. Si usted está considerando un establo con encamado de compost, asegúrese de que tiene un suministro fiable, rentable, y disponible de serrín. La demanda de serrín subirá y los precios seguirán aumentando a medida que más personas construyan estos establos; y también hay un aumento de la demanda de serrín para los biocombustibles, tabaco dark fire, el carbón vegetal, y para otras industrias. Tened en cuenta hasta qué punto los precios del serrín afectan a los costes diarios y anuales del encamado. Si el encamado no se gestiona bien, se pueden agregar a tus costes el mayor riesgo de la exposición a agentes patógenos de la mastitis ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- Alakangas, E. 2010. European standard for wood chips and hog fuel. Proceedings Forest Bioenergy 2010. FINBIO Publications 47, pp. 329-340.
- Barberg, A. E., M. I. Endres, and K. A. Janni. 2007a. Compost dairy barns in Minnesota: A descriptive study. Appl. Eng. Agric. 23(2):231.
- Barberg, A. E., M. I. Endres, J. A. Salfer, and J. K. Reneau. 2007b. Performance and Welfare of Dairy Cows in an Alternative Housing System in Minnesota. J. Dairy Sci. 90(3):1575-1583.
- Bewley, J.M. and J.L. Taraba. 2009. Compost bedded pack barns in Kentucky. University of Kentucky Cooperative Extension Service Factsheet ID-178.
- Bey, R. and J. Reneau. 2007. Composting effects on mastitis pathogens. In: Proceedings of the National Compost Dairy Barn Conference, June 21-22, 2007, Burnsville, Minnesota. pp. 3-16.
- Endres, M. I. and A. E. Barberg. 2007. Behavior of Dairy Cows in an Alternative Bedded pack Housing System. Journal of Dairy Science 90(9):4192.
- Endres, M.I. and K.A. Janni. 2008. Compost-bedded pack barns for dairy cows. Accessed: March 3, 2009. Available at: http://www.extension.org/pages/Compost_Bedded_Pack_Barns_for_Dairy_Cows.
- Gay, S.W. 2006. Bedded pack Dairy Barns. Accessed: 16 March 2009. Publication Number 442-124. Available at: http://www.ext.vt.edu/pubs/bse/442-124/442-124.html
- Graves, R.E. and M. Brugger. 1995. Natural Ventilation for Freestall Barns. Extension Publication G 75. Penn State University, College Park.
- Halbach, T.R. 2007. Compost basics: “Ball Park” initial conditions. In: Proceedings of the National Compost Dairy Barn Conference, June 21-22, 2007, Burnsville, Minnesota. pp. 3-16.
- Janni, K. A., M. I. Endres, J. K. Reneau, and W. Schoper. 2006. Compost barns: An alternative dairy housing system in Minnesota. Proceedings of the 2006 American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE) Annual International Meeting, Portland, Oregon. ASABE Paper 64031.
- Janni, K. A., M. I. Endres, J. K. Reneau, and W. W. Schoper. 2007. Compost dairy barn layout and management recommendations. Appl. Eng. Agric. 23(1):97.
- Kammel, D. 2005. Design and Maintenance of a Bedded Pen (Pack) Housing System. Accessed: March 16, 2009. Available at: http://www.uwex.edu/ces/cty/marathon/ag/modern/documents/DesignofBeddedPackHousing.pdf

- Petzen, J., C. Wolfanger, J. Bonhotal, M. Schwarz, T. Terry, N. Youngers. 2009. Case Study: Eagleview Compost Dairy Barn.
- Shane, E.M., M.I. Endres, D.G. Johnson, and J.K. Reneau. 2008. Bedding options for an alternative housing system for dairy cows. Abstract W180. American Dairy Science Association Annual Meeting. Indianapolis, Indiana.
- Stowell, R. R., W. G. Bickert and F. V. Nurnberger. 1998. Radiant heating and thermal environment of metal-roofed dairy barns. In: Proceedings of the Fourth International Dairy Housing Conference, p. 193-200. ASAE, St. Joseph, MI 49085.
- Tyson, J. T. 2010. Dairy Heat Abatement System Selection Tool Paper Number: 1008950. 2010 ASABE Annual International Meeting. Pittsburgh, PA, June 20 –23.

ENGLISH VERSION

Compost bedded pack barn design features and management considerations

Dr. Jeffrey Bewley

Support Manager-BoviSync, jbewley@bovisync.com

Consultant, CowFocused Housing, jbewley@cowfocused.com

INTRODUCTION

The compost bedded pack barn is a housing system for lactating dairy cows consisting of a large, open resting area, usually bedded with sawdust or dry, fine wood shavings that are composted in place, along with manure, when mechanically stirred on a regular basis. The most critical success factor for managing a compost bedded pack barn is providing a comfortable, dry resting surface for lactating cows at all times. Producer reported benefits of these barns include improved cow comfort, improved cow cleanliness, the low maintenance nature of the system, improved feet and legs, decreased somatic cell count, increased heat detection, ease of manure handling, increased production, increased longevity, low investment costs, less odor, fewer flies, less concern with cow size, and improved manure value.

The general concept of composting is mixing a carbon source (bedding) with a high nitrogen organic material (manure/urine), while providing conditions (porosity) to encourage air infiltration into the pack, and maintaining the moisture level to achieve rapid microbial breakdown of organic matter until there is little easily degraded organic matter remaining. It is important to note that composting in place within a barn where manure, urine, manure, and bedding are continuously added results in compost at cleanout that is not completely finished, or cured.

Compost bedded pack barns can be the primary housing in smaller herds or provide special needs housing in larger herds. Cows can be managed in a single group within the barn or in multiple groups subdivided within the barn. These barns are intensively managed to encourage composting of manure and organic material, unlike more traditional straw-based bedded packs. Proper composting increases the bedding temperature and decreases the bedding moisture by increasing the drying rate. Keeping the top layer of bedding material dry is the most important part of managing a compost bedded pack barn. The pack is stirred at least two times per day. Stirring is typically accomplished while the cows are being milked, using various types of cultivators or roto-tillers. Facility design, ventilation, timely addition of fresh, dry bedding, frequent and deep stirring, and avoidance of overcrowding are the keys to a good working compost bedded pack barn. Poor management and coordination of these factors may lead to very undesirable compost bed conditions, dirty cows, elevated somatic cell counts, and increased clinical mastitis incidence.

Site Selection and Preparation.

As with any dairy facility, site selection is critical. To maximize natural ventilation, the barn should be located to take advantage of prevailing summer winds, as well as orientation with respect to the sun. Care should be taken to ensure that the barn is placed far enough away from other barns, silos, or buildings. Barn ventilation must allow for supply of fresh air since the composting pack generates additional heat and moisture that must be exhausted from the barn compared to a similarly populated freestall or bedded pack barn, particularly in the summer. The barn-building site should also be elevated slightly so that exterior surface drainage is diverted around and away from the building footprint to minimize rain and snow runoff infiltrating into the pack. Although it is unlikely the pack will be wet enough for drainage from the bottom, selecting a location with minimal potential for environmental risk from pack seepage is also important. Building sites that require excavation or cuts into slopes may expose groundwater sources that discharge within building footprint, especially during wet periods of the year. The emergence of water under the compost bed will be a problem that contributes to higher compost bed moisture. Drainage tile will be required to remove this water from the building site. The pack base should be either clay, gravel, or concrete. A concrete base has no real advantages, so new facilities are generally constructed using a clay base, which is potentially cheaper. Either concrete or clay can reduce seepage from the pack into the underlying soil. However, some states require concrete or the equivalent compacted base to prevent groundwater being contaminated by the seepage. Check with the appropriate state agency during the building planning stage. However, a well-managed compost bed will not drain since the optimum moisture content for operating a compost bed is below the bedding material water holding capacity.

Layout.

Most newly constructed compost bedded pack barns are built by modifying existing designs for two-, three-, or four-row freestall barns with wooden, steel, or hoop frames. Some producers have even built their barns with dimensions that allow flexibility for converting to a freestall barn later by adding concrete alleys, freestall platforms, dividers, and waterers. These modifications allow flexibility in case the producers find the facility does not meet their needs or a changing market or bedding supply makes modifications necessary. These designs are a single building with sufficient sidewall open area and ridge vent width for proper ventilation. Hoop structures have also been used although concerns exist about adequate ventilation in these structures. The single structure includes the compost bedded open resting area with a concrete alleyway for access to the feedbunk and waterers. The bedded pack is surrounded on all sides by 2 to 4-foot walls, including a wall to separate the bedded pack from the feed alley. A concrete retaining wall provides separation between the feed alley and the pack area, which is helpful in managing pack moisture. Additionally, on the outside of the barn the retaining wall keeps bedding material within the barn.These walls may be cast-in-place concrete, moveable concrete panels, highway guardrail, or wooden panels. Design walls considering the pressure from the manure pack. Wheeled

equipment on the compost bed also increases the wall design surcharge pressure. As the compost depth rises, these walls no longer are barriers and cow safety becomes a concern. Topping the barrier with wire fencing, steel cable, high-tension wire (a 4-6" board should be placed so the cow realizes there is a fence there), bars or wood planking will eliminate this risk. Fencing should be minimized to avoid negative airflow implications.

Feed, Water, and Alleys. For optimum animal performance and health, feed and water should be easily accessible and readily available at all times in a feed alleyway. Feeding areas may be located in the barn or under a separate roof outside the barn. However, feeding areas in the barn are preferred to encourage more feed intake. If a separate feedbunk and waterer is utilized, cows will prefer resting over travel if distances are greater than 300 feet. Provide a minimum of 24 to 30 inches of feed bunk space per cow, 3 feet of water tank perimeter per 15 to 20 cows, and at least 2 separate water locations per pen. Do not reduce feed and water access in an effort to build a low-cost facility.

Concrete feed alleys should be 14 to 16 feet wide, with access to the bedded pack located every 50 and at each end. Cows will generally use the resting space provided more efficiently when they have multiple entry access points along the long side of the rectangular resting area. If the entrance to the barn is on the narrow end with only one entry access point, a wet, dirty area may develop at the entrance because of increased cow traffic. Additionally, cows are less likely to distribute themselves throughout the barn. The feed alley, located on one long side of the barn or on both sides of a drive-through feeding barn, allows cows access to feed and water without traveling long distances. Fans and sprinklers placed along the feedbunk improve cow cooling and increase feed intake. Because cows defecate and urinate more around feed and water, they should have access to waterers only on the alley side. Alley-only access minimizes excess moisture in the pack and keeps water cleaner. It also eliminates the need to alter waterer height as the pack depth changes.

Manure and urine in the cow feed alley needs to be removed daily and may need to be handled as a liquid, separately from the compost; the liquid manure will require its own manure storage. Another option is to use a slotted floor in the feeding alley with manure storage beneath. Consult with your state's environmental agency or Extension, prior to starting construction, for details on manure storage structures and application requirements.

Compost bed area size

First, one needs to decide how much space to allocate per animal. In general, the pack area should provide at least 100 square feet of resting space per cow (85 square feet for Jerseys). Pack space per cow needs to be increased 10 square feet for each 25 pound/day of increased milk production above 50 pound/day because these cows will produce more urine and manure because of taking in more feed and water. In facilities for special needs cows, producers should provide 125 square ft of resting space.

In an overcrowded barn, there may be too much moisture in the pack, dirtier cows, and higher somatic cell counts, for these reasons:

- Manure and urine going into the pack increase, which causes the pack's moisture level to rise to excessive levels and the composting process to slow considerably.
- Physical packing of the bedding material increases, which reduces airflow in the pack.
- The amount of fecal contamination (non-ag Streps and coliforms) in the lying space increases because of more manure, which can lead to greater incidence of environmental mastitis.

Natural Ventilation

Adequate ventilation is essential. However, ventilation needs vary between cold and hot temperatures necessitating a consideration of ventilation trade-offs (i.e. very open in the summer versus open with curtains in the winter). Ventilation removes heat and moisture created by the cows and the extra heat and moisture created by the composting process. Proper ventilation generally includes natural air movement through the barn but mechanical ventilation, through fans, can also be used. Mechanical circulation of air within the building prevents stagnant areas. Proper ventilation can improve cows' overall health and immunity by controlling dust and fine particles that may lead to respiratory problems, cooling cows in the summer, and drying the pack surface (which helps keep cows clean).

Sidewalls should be constructed to allow for at least 12 feet of open space for airflow above the retaining wall or outside curb for barns that are less than 40 ft wide while a 14 ft height is recommended for barns wider than 40 ft. For example, if a 40 ft wide barn has a 4-foot concrete wall, the total sidewall height should be 16 feet. To maintain adequate natural ventilation under heat-stress weather conditions, the total open area of a windward barn sidewall plus an endwall is suggested to be at least seven ft^2/cow with the target of 11 ft^2/cow. The compost bedded pack barn sidewall area target is 11 ft^2/cow since the composting bedding material produces additional heat and moisture to that produced by the cows. Closed in barns do not allow for proper cow and pack ventilation.

Eave overhangs should be equal to 1/3 the height of the sidewall to minimize rain from reaching the pack and install roof gutters to reduce roof runoff from blowing into the pack.

Sidewall curtains help minimize the effects of winter winds and inclement weather on compost temperatures. Excessive winter ventilation from open sidewalls increases compost bed moisture evaporation causing bed cooling and heat loss that may not be replaced by compost heat generation. This perspective is different from windrow composting. Compost beds have a larger surface area to heat generating volume compared to compost windrows. The sidewall curtains need to maintain a minimum under eave opening of one-half the ridge opening to prevent a barn from becoming a "warm barn" in winter that results in high levels of condensation, fog, ammonia, and cow pneumonia. Shades may be beneficial to encourage cow distribution within the pack.

Roof pitch of barns of less than 4:12 will limit the natural ventilation rate per cow. The structure roof pitch affects natural ventilation. Too flat of a roof for a wide barn limits the natural ventilation rate and makes it easier for pockets of warm moist air to become trapped. This is a greater issue when warm moist air is trapped against cold roof surfaces during winter weather conditions (Stowell *et al.*, 1998).

Barn orientation that is east-west takes advantage of prevailing southerly summer winds and reduction of late afternoon sunlight entering the barn. This orientation also minimizes the percentage of the day when sunlight bears down on cows with the pack or feed alley. Different prevailing winds can be regional or site specific due to the local terrain and barn position within the landscape. Under these situations, the barn should ideally

be oriented from a ventilation standpoint so the prevailing summer wind is perpendicular to the longitudinal sidewall if possible. Extending the roof eave may be required to reduce afternoon sunlight from entering the barn.

Continuous ridge vent opening of at least 3 inches for each 10 feet of building roof width is recommended with a minimum opening of 12 inches for barn widths of less than 40 feet. The basic air movement in a compost bedded pack barn flows into the barn through the windward sidewalls and is exhausted through the ridge vent and the leeward wall opening. Ridge vents are generally more effective if the prevailing winds are perpendicular to the ridgeline. Orientation should favor ventilation. An overshot (half monitor) ridge opening should face away from the winter prevailing winds. Alternate ridge opening designs can be found in Ridge Openings for Naturally Ventilated Dairy Shelters (McFarland, Graves, Tyson, Wilson. DIP 811, Penn State University, 2007) that address concerns about precipitation entering the barn through the ridge opening. The barn site may dictate a different orientation due to terrain, cost of site preparation to achieve the best orientation, or other buildings. The disadvantages of barn orientation may be overcome with floor design and eave extension to reduce sunlight penetration and mechanical ventilation to overcome reduced natural ventilation.

Circulation Fans

Circulation fans (ceiling or big box) are recommended to help keep the pack dry and ensure adequate air speeds throughout the barn. Many farms have installed high volume/low speed ceiling fans in their compost bedded pack barns and these appear to work well. When installing fans, it is important to ensure that there is enough clearance for tillage equipment to work underneath them at maximum pack depth and that fan blades do not damage barn trusses.

Without circulation fans in the barn, cows may congregate in areas where natural airflow is higher during heat stress conditions. Petzen *et al.* (2009) reported that cows congregated in the center of a barn when temperatures exceeded 80°F. Congregation of animals in one area leads to excessive manure and urine accumulation and ineffective composting from too high moisture.

THE COMPOST PROCESS

Composting relies on aerobic microorganisms to break down organic matter and produce carbon dioxide, water, and heat. In a compost bedded pack barn, the manure and urine released by cattle and the added bedding provide the essential nutrients (carbon, nitrogen, moisture, and microorganisms) needed for the composting process.

Composting is an aerobic process. The continuous introduction of oxygen (air), carbon and nitrogen (through manure) and moisture control (new bedding) is required for success. In a compost bedded pack barn, the oxygen comes from stirring (aerating) the bedding and from the air that diffuses into the bedding surface, which should be fluffy to encourage the air infiltration. How well the compost bedded pack works depends on maintaining the appropriate balance of carbon, nitrogen, oxygen, moisture, temperature, and microbial activity populations. When the proportions of bedding, cow stocking density, oxygen, and moisture are optimally balanced, the microorganism population will thrive and produce sufficient heat to dry the pack and maintain active aerobic bacteria to continue the composting process. This may result in reduction of pathogens, fly larvae, and weed seeds. When the compost pack is working well, the pack surface will appear dry and fluffy. However, when the pack is not working well, the surface appears wet and chunky.

The pack's temperature provides a good indication of the level of microbial activity. Temperatures near the surface of the pack are closer to the air temperature because moisture, evaporation, and air movement dissipate heat. The bedding surface-temperature under a resting cow will rise, however. The ideal pack temperature goal, measured at approximately 6-12 inches below the surface, is between 110 and 140° F. When temperatures exceed 150 ° F, surface temperatures may increase to the point where cows do not want to lie down on the pack. A temperature in that range indicates that organic materials are breaking down rapidly. When the temperature is lower, the composting process is too slow, often because inadequate oxygen from stirring, too high moisture, or high heat loss during the winter. When it is above this range, the beneficial aerobic bacteria are killed.

Temperatures can be measured with a long cooking thermometer. If a thermometer is not available, you can feel the material (at 12 inches beneath the surface) with your bare hands. If the pack is hot almost to the point that you do not want to touch it, the temperature is likely high enough (> 110 °F). Particularly in the morning, compost that is heating properly may even produce steam.

Manure, urine, and microbial activity produce a pack's source of moisture, which ideally should be between 45 -55% but an operating range that can still have significant activity for success is 40 and 60%. When moisture is too low, the microbes will not have enough water, and the compost will be too cool, resulting in a compost rate that is too slow. If the moisture level is too high, the pack becomes anaerobic (lacking oxygen); the rate of microbial decomposition will slow; and again, composting and heat generation will be too slow.

As a simple moisture check, grab a handful of bedding and squeeze it. If you can squeeze water out or if water droplets drip from or appear on the surface of squeezed bedding, the pack is too wet. This is a sign that new dry bedding should be added to the pack. If you cannot form a ball, the pack is too dry. This condition may actually occur when bedding is added too frequently. When the pack is working well, the bedding material will appear loose and fluffy, not compacted and chunky.

Generally, temperatures are higher when the pack is fluffy because air promotes microbial activity. When the pack is compacted and has excessive moisture, you will see reduced temperatures. Moreover, when moisture is excessive, the bedding and manure will more readily stick to the cow's hide and udder.

Excessively high temperatures in the compost bed (more than 150° F) occur when there is high microbial activity due to the presence of easily digestible organic matter and moisture is near the low end of the optimal range. Under these conditions, the pack does not have enough water for evaporative cooling. Lack of water may occur when cow density is low, when air movement dries the pack more quickly, or in warm, dry weather.

Ideally, the C: N ratio for a peak composting rate needs to be between 25:1 and 30:1. New bedding material, besides absorbing water, will also aid in achieving this ratio. If you can smell ammonia in the barn, the C: N ratio is likely below 25:1.

Keys to Managing a Compost Bedded Pack Barn

As with any facility, the success of a compost bedded pack barn

hinges largely on how well it is managed. Maintaining proper aeration and stocking density are fundamental. When the pack is stirred frequently and uniformly, the manure and urine from the surface are stirred into the pack while oxygen and moisture are incorporated. The result is better heating and aerobic decomposition of organic material.

Compost start-up.

Compost bed start-up in a new barn or after barn cleanout requires 1foot of bedding to be applied to the barn floor. Depending upon barn size, cow numbers, and pack area, several semi-loads of sawdust may be required to start the pack. Make sure to add enough sawdust so that the mixing equipment does not encounter the barn floor. Starting a new bed should occur when 4 to 6 weeks of weather with highs generally above 50 °F are expected. Ideally, the new compost should be started so that heat generation rate reaches a peak before the arrival of temperatures that may freeze the pack in any part of the barn. Not achieving an actively composting bed going into winter may result in low heat production that does not overcome the heat losses and poor bed performance results throughout the winter.

Compost Cleanout.

The bedding area is generally cleaned out in the fall or spring, with the used bedding applied to the land. Some producers also clean the packs in the spring that would allow maximum nitrogen retention for crop uptake. The pack depth may reach 4 feet before cleaning depending on sawdust used and composting intensity. Most producers return 6 to 12 inches of old material to help start microbial activity in the new pack. If it is possible to conserve the top layer of the old compost bed, this is the most active, acclimated microorganisms to continue the composting process in the new bed. Some innovative producers continue the composting by stockpiling compost material after the pack is cleaned out. They turn this material to accelerate drying and then re-introduce this dry product into the pack along with new sawdust to stretch the sawdust supply and jump-start the composting process. Compost samples should be analyzed for fertilizer value and recorded for manure management plans. Alternatively, the bedding may be removed from the barn, managed to produce finished compost, and sold.

COMPOST BED STIRRING/AERATION. Uniform stirring and mixing provide a clean, soft, dry surface upon which the cows lie. Aerate the compost bed to a depth of at least 12 inches. Periodic deep stirring, up to 18 inches, with a chisel plow reduces the amount of bedding you will need and increase pack temperatures. Some producers plow the pack twice during each stirring event, both lengthwise and crosswise, to further increase aeration. Stir the compost during every milking, while cows are out of the barn. Not only is it easier to stir while cows are out of the barn, but this practice also minimizes the chances of the dust created during stirring causing respiratory issues for the cows. The person doing the stirring should consider wearing a mask to avoid respiratory problems. If possible, cows should be kept off the pack for at least an hour after stirring to allow the top layer of bedding to dry (especially during the winter). Running fans after stirring helps dry the surface throughout the year, not just during warmer conditions. Most producers begin stirring about a day after new sawdust is added to the pack.

Equipment

A variety of methods is used to stir. Most producers use a cultivator, tines, or a rotary tiller attached to a skid steer or small tractor. It is important to breakup tractor tracks by positioning mixing tools to follow the tires. If heavy equipment is used, wheel tracks will not be broken up; also, if the pack is too wet, the pack may become compacted, limiting oxygen and causing lower temperatures. Compaction also leads to higher bed moisture and thus inadequate aeration.

Addition of Bedding Material.

Use the simple moisture check–grab a handful of bedding and squeeze it. If you can form a tight ball, squeeze water out or if water droplets drip from or appear on the surface of squeezed bedding, the pack is too wet. New bedding (4 to 8 inches) is added to the pack before the moisture increases to the point where the tight ball is formed. Waiting until bedding starts to stick may be too late. The frequency of adding bedding depends on how much evaporation occurs, how much manure and urine are introduced, season, ambient temperature, and ambient humidity. Generally, the new bedding is added every one to six weeks. Some producers add smaller amounts of bedding more frequently. More bedding may be used during humid or wet weather or if the barn is overcrowded. When using green sawdust, more bedding will be used since it will not absorb as much moisture as kiln-dried sawdust.

Moisture control of bedding in the 40-60% range and twice-daily bed stirring are critical for success. The compost bed can get out of balance if management does not recognize poor moisture conditions before temperatures start falling, cow hygiene deteriorates, and the risk of environmental mastitis rises. Moisture control depends on recognizing the moisture range by the hand squeeze test and responding with added bedding, lower cow numbers, and increasing stirring effort for improved drying and aeration.

Bedding Material

Minnesota researchers and dairy producers suggest dry, fine wood shavings or sawdust, preferably from pine or other softwoods, as the bedding materials of choice in compost bedded pack barns. Chipped wood is less desirable. Wood chipped with blades has smooth surfaces that hold less water than sawn or hammer-milled wood that result in rough surfaces. Wood chipped with flails or hammers may have sharp edges, like toothpicks, that can injure cows. Kiln-dried sawdust is preferred, but the pack will perform well as long as the moisture content for sawdust is less than 18% when it is put in the compost-bedded pack. Green sawdust is generally wet and may harbor Klebsiella bacteria. If green sawdust is used, the amount used is higher than kiln-dried because its higher water content reduces the amount of water that can be absorbed. Cedar should be avoided because it contains oils and organic materials that inhibit the microbial activity necessary for composting. Black walnut has been shown to cause laminitis in horses, though there is no research to support this result in dairy cattle.

The size of bedding particles is particularly important for regulating microbial access to the food source–manure and urine. At the same time, the high lignin content of these wood materials provides some resistance to microbial breakdown, which makes it last longer. Kiln-dried sawdust is a fine, coarse material that provides a suitable ratio of surface area to volume, is easy to till, and absorbs and holds liquids well. Alternate bedding materials with large particles do not work well and need to be finely chopped. In early research studies, finely processed corncobs, soy straw, or flax straw, ground through a 3/4-inch screen, have performed well. Such fine materials may be used in a mix with sawdust to stretch sawdust supply. Long lengths of corn stalks; waste hay; and oat, barley, and wheat

straw tend to retain too much water because they are slow in drying. Moreover, if the waxy outer surface coating remains on wheat straw, water is slower to be absorbed or dried. If you use these alternate bedding materials, you may find it hard to stir and aerate the pack, or you may create a pulp or chunks.

Winter Management.

Winter management of compost bedded pack barns is the most challenging and requires the most bedding. In freezing conditions, manure piles may freeze during the night and thaw during the day. When pack moisture levels exceed acceptable levels in the winter resulting in dirty cows, many dairy producers alter their management toward more frequent addition of thin layers of fresh bedding to keep cows dry and clean. Bedding usage during the wintertime is generally 2 to 3 times more than during the summer. Because sawdust is generally more available in summer months, but needed more in winter months, building a facility for stockpiling sawdust can be helpful for sawdust supply management.

Pathogen Levels.

Even when the compost process works well, pathogen levels in a compost bedded pack barn are high. Minnesota research showed large numbers (9,122,700 cells/cc) of mastitis-causing pathogens on the surface of compost-bedded packs, including coliforms, environmental Staphylococcus species, and Bacillus (Barberg *et al.*, 2007a). Vaccination of cows with an E. coli vaccine may also prove beneficial. Some concerns have been expressed about the risk of respiratory problems associated with excessive dust.

Grouping.

In large compost barns, grouping of cows may be necessary. Groups should be limited to 150 cows. This barn incorporated a concrete barrier to separate the barn into two management groups. Additionally, a catwalk was added to the barn for cow observation.

Economic Considerations

Before building a compost bedded pack barn, the costs of construction must be considered, along with annual maintenance and bedding and the profitability of a new barn. Building costs vary because concrete, steel, and wood prices fluctuate. How much of the barn you build yourself and what options you add are cost factors. Per cow construction costs for a compost bedded pack barn are generally lower than for a freestall barn, despite more area required per cow. Less concrete is used and there is no investment in freestall partitions and bases. It may cost you more if you build a facility for on-farm storage of sawdust (to assure availability and enable you to buy it when prices are lower).

While initial investment is lower than for a freestall barn, annual maintenance is typically higher. For a 100-cow herd, assume a semi-truckload of sawdust (about 18 tons) is used every two to five weeks. At these rates, bedding costs have ranged from $0.35 to $0.85 per cow per day. Compost barn managers are also advised to clean shade cloth and ventilation inlets frequently because of the amount of dust stirred throughout the year.

Also, consider the cost of handling manure. Compost bedded pack barns reduce the amount of manure storage, but require equipment to handle both liquid and dry manure. Keep in mind that dry manure can be easier to handle and does not have to be applied as frequently. Furthermore, composting stabilizes the N, P, and K concentrations of the manure. Storing manure within the barn reduces the amount of precipitation that must be hauled from storage

In calculating labor costs, assume that 10 to 15 minutes per 100 cows is required for stirring and scraping the feed alley, which is generally accomplished twice daily during milkings. To offset costs, you may find a market for selling the final compost.

Potential Limitations

The primary limitation for compost bedded pack barns to date has been sawdust availability. These barns require three to four times the amount of bedding of a typical freestall barn. In on-farm experiments, alternative materials have not performed as well as sawdust. If you are considering a compost bedded pack barn, make sure you have a reliable, cost-effective, timely supply of sawdust available. Demand for sawdust will go up and prices will continue to rise as more people build these barns and increased demand for sawdust comes from the biofuel, dark-fire tobacco, charcoal, and other industries. Consider how sawdust prices affect daily and annual bedding costs. If the pack is not managed well, the higher risk of exposure to environmental mastitis pathogens can add to your costs.

REFERENCES

- Alakangas, E. 2010. European standard for wood chips and hog fuel. Proceedings Forest Bioenergy 2010. FINBIO Publications 47, pp. 329-340.
- Barberg, A. E., M. I. Endres, and K. A. Janni. 2007a. Compost dairy barns in Minnesota: A descriptive study. Appl. Eng. Agric. 23(2):231.
- Barberg, A. E., M. I. Endres, J. A. Salfer, and J. K. Reneau. 2007b. Performance and Welfare of Dairy Cows in an Alternative Housing System in Minnesota. J. Dairy Sci. 90(3):1575-1583.
- Bewley, J.M. and J.L. Taraba. 2009. Compost bedded pack barns in Kentucky. University of Kentucky Cooperative Extension Service Factsheet ID-178.
- Bey, R. and J. Reneau. 2007. Composting effects on mastitis pathogens. In: Proceedings of the National Compost Dairy Barn Conference, June 21-22, 2007, Burnsville, Minnesota. pp. 3-16.
- Endres, M. I. and A. E. Barberg. 2007. Behavior of Dairy Cows in an Alternative Bedded pack Housing System. Journal of Dairy Science 90(9):4192.
- Endres, M.I. and K.A. Janni. 2008. Compost-bedded pack barns for dairy cows. Accessed: March 3, 2009. Available at: http://www.extension.org/pages/Compost_Bedded_Pack_Barns_for_Dairy_Cows.
- Gay, S.W. 2006. Bedded pack Dairy Barns. Accessed: 16 March 2009. Publication Number 442-124. Available at: http://www.ext.vt.edu/pubs/bse/442-124/442-124.html
- Graves, R.E. and M. Brugger. 1995. Natural Ventilation for Freestall Barns. Extension Publication G 75. Penn State University, College Park.
- Halbach, T.R. 2007. Compost basics: “Ball Park” initial conditions. In: Proceedings of the National Compost Dairy Barn Conference, June 21-22, 2007, Burnsville, Minnesota. pp. 3-16.
- Janni, K. A., M. I. Endres, J. K. Reneau, and W. Schoper. 2006. Compost barns: An alternative dairy housing system in Minnesota. Proceedings of the 2006 American Society

of Agricultural and Biological Engineers (ASABE) Annual International Meeting, Portland, Oregon. ASABE Paper 64031.

- Janni, K. A., M. I. Endres, J. K. Reneau, and W. W. Schoper. 2007. Compost dairy barn layout and management recommendations. Appl. Eng. Agric. 23(1):97.
- Kammel, D. 2005. Design and Maintenance of a Bedded Pen (Pack) Housing System. Accessed: March 16, 2009. Available at: http://www.uwex.edu/ces/cty/marathon/ag/modern/documents/DesignofBeddedPackHousing.pdf
- Petzen, J., C. Wolfanger, J. Bonhotal, M. Schwarz, T. Terry, N. Youngers. 2009. Case Study: Eagleview Compost Dairy Barn.
- Shane, E.M., M.I. Endres, D.G. Johnson, and J.K. Reneau. 2008. Bedding options for an alternative housing system for dairy cows. Abstract W180. American Dairy Science Association Annual Meeting. Indianapolis, Indiana.
- Stowell, R. R., W. G. Bickert and F. V. Nurnberger. 1998. Radiant heating and thermal environment of metal-roofed dairy barns. In: Proceedings of the Fourth International Dairy Housing Conference, p. 193-200. ASAE, St. Joseph, MI 49085.
- Tyson, J. T. 2010. Dairy Heat Abatement System Selection Tool Paper Number: 1008950. 2010 ASABE Annual International Meeting. Pittsburgh, PA, June 20 –23.

PREDICCIÓN DE LA MASTITIS MEDIANTE UN ALMACÉN DE DATOS EN TIEMPO REAL

Liang, D.[1], A., Golechha[2], V. E. Cabrera[1]

1Departamento de Ciencias Lecheras; 1Departamento de Ciencias Informáticas
Universidad de Wisconsin-Madison

RESUMEN

Este proyecto pretende desarrollar un procedimiento de análisis de datos para supervisar los casos de mastitis clínica **(CM**) y predecir la aparición de la CM a nivel de vaca utilizando la producción lechera diaria (**MY**), la conductividad diaria de leche (**MC**), los resultados de pruebas mensuales, y los registros sanitarios basado en un almacén de datos integrados alojado en la Universidad de Wisconsin-Madison. Se han estado transfiriendo diariamente los datos del ordeño y los registros de gestión desde la explotación lechera a nuestros servidores desde mayo de 2017. Basados en 976.921 registros de producción de leche (MY) y 155,279 registros relacionados con la historia clínica y de gestión de una granja, ocurrieron 501 casos de mastitis (CM) entre 30 y 100 días posparto (**30-100 CM**) y se encontraron 18,311 registros de producción de leche (MY) antes del diagnóstico de entre 390 vacas. Ocurrieron 49, 193, y 259 casos en la 1ª, 2ª, 3ª+ lactancia, respectivamente. La media y la SD de los días del diagnóstico posparto (**DIM**) fue de 63.99±20.64 y la incidencia fue del 9,60% (casos de CM en relación al número de casos de vacas sin mastitis). Se incluyeron en el modelo los datos que indican si la vaca había sufrido de CM en la lactancia anterior (para multíparas) o durante el período de transición (primeros 30 DIM). También se incluyeron datos de la mejora del rebaño lechero (**DHI**) del primer mes y el recuento de células somáticas (**FTSCS**). El diagnóstico de mastitis DIM y de no-mastitis DIM se dividió en intervalos de 10 días y sólo se utilizó el diagnóstico previo de MY de 10 días. El análisis de los datos se realizó utilizando R (R Core Team) que encaja con un modelo de regresión logística. El modelo de la primera fase predecía la CM utilizando sólo los registros sanitarios y el FTSCS. El modelo de la segunda etapa comparó 5 ventanas de predicción de CM (de 1 a 5 días antes del diagnóstico). La historia de CM en la lactancia anterior y durante los primeros 30 DIM de la lactación actual se asociaron significativamente con 30-100 CM (p<0,01). La FTSCS fue significativamente mayor en las vacas de 30-100 CM que en las vacas sin mastitis (2,43±2,13 vs. 1,73±1,50). El modelo de regresión logística fue probado en un held-out test set, que contenía un 40% de los datos originales. El modelo de la primera etapa mostró una fuerte relación entre la historia clínica de mastitis, la FTSCS y la CM, que podría ayudar a los productores lácteos a identificar las vacas con alto riesgo de 30-100 CM. Los modelos de la segunda etapa fueron prometedores y mostraron la mejora de la precisión de la predicción con la ventana de diagnóstico acercándose al día real del diagnóstico. Sin embargo, los modelos de la segunda etapa necesitan más ajustes para identificar a las vacas con predicciones que resultaron ser falsos positivos de las vacas con predicciones que eran positivos verdaderos.

Palabras clave: Regresión logística, aprendizaje electrónico, lactancia temprana

INTRODUCCIÓN

La mastitis es causada principalmente por bacterias patógenas que invaden y se multiplican en la glándula mamaria (Harmon, 1994). La mastitis es una enfermedad de la actividad lechera común y costosa en todo el mundo (Rajala-Schultz *et al.*, 1999; Halasa *et al.*, 2007). El costo promedio de un caso de mastitis clínica (**CM**) era de 325.76 ± 71.12 en el caso de vacas primíparas y de 426.50±80.27 para vacas multíparas en las explotaciones lecheras de los EE.UU. (Liang *et al.*, 2016). El monitorear constantemente la prevalencia de la mastitis y a las vacas de alto riesgo es esencial en la gestión de una granja para comprender el estado de salud de las ubres del rebaño y para la detección temprana de posibles casos.

La investigación ha tenido en cuenta la historia clínica de la mastitis, la producción de leche (**MY**), la conductividad electrónica de la leche (**MC**), leche y el recuento de células somáticas para predecir la mastitis a nivel de vaca (Norberg *et al.*, 2004; Miekley *et al.*, 2013)and it may be considered as a potential trait in a breeding program where selection for improved udder health is included. In this study, various EC traits were investigated for their association with udder health. In total, 322 cows with 549 lactations were included in the study. Cows were classified as healthy or clinically or subclinically infected, and EC was measured repeatedly during milking on each quarter. Four EC traits were defined; the inter-quarter ratio (IQR. La Mastitis es a menudo una enfermedad recurrente (Bar *et al.*, 2008). Las vacas con casos de mastitis anteriores mostraron mayores posibilidades de recaer, y las vacas con enfermedades de transición o con un bajo índice de rendimiento de transición también presentaron mayores posibilidades de desarrollar la mastitis en el mismo período de lactancia. Lukas *et al.* (2009) constató que la MY y MC muestran cambios unos 10 días antes del diagnóstico de la CM. Miekley *et al.*(2013)a sub-discipline in the field of artificial intelligence, for the early detection of mastitis. Data used were recorded on the Karkendamm dairy research farm (Kiel, Germany propuso un modelo de aprendizaje electrónico para detectar la CM usando mi la MY diario, la MC y la historia clínica de mastitis. Los resultados de este estudio demostraron el potencial de predicción de la CM utilizando datos a nivel de vaca y de los registros de gestión.

Las granjas lecheras han recibido con los brazos abiertos las innovaciones tecnológicas y cuentan en la actualidad con unos flujos permanentes de datos masivos. Se genera constantemente una tremenda cantidad de datos relacionados con una granja lechera e incluyen datos internos de la granja tales como el ordeño, la alimentación, o reproducción, y datos externos como el clima y los precios. Sin embargo, la integración de datos a través de varias fuentes es insuficiente en las granjas lecheras ya que cada fuente de datos tiene un tipo de software/registro independiente que no se comunica de forma efectiva con los demás. Una completa base de datos de fácil acceso y es la base de la gestión de datos y de análisis adicionales. La recopilación e integración de datos en tiempo real permite la toma de decisiones en la explotación para reaccionar rápidamente o anticiparse a los cambios que afectan a la producción de las vacas (es decir, la salud o la reproducción), el medio ambiente (es decir, el estrés térmico) y el mercado (es decir, el precios de la leche o de los piensos).

Este proyecto pretende desarrollar un sistema de gestión y control de la mastitis mediante un almacén de datos casi en tiempo real como parte del Virtual Dairy Farm Brain Project (Proyecto de Cerebro Virtual de Explotación Láctea) de la Universidad de Wisconsin-Madison.

MATERIALES Y MÉTODOS

Almacén de Datos

La Virtual Dairy Farm Brain Project recopila prácticamente en tiempo real datos de la explotación y ajenos a la explotación y diseña un almacén de datos específico de la explotación para guardar correctamente esos datos. Las fuentes de datos de la explotación se recogen cada día e incluyen los registros de gestión del rebaño (salud, reproducción, etc.), datos de ordeño, y el consumo de alimento y datos sobre el costo de la dieta. Las fuentes de datos ajenos a la explotación incluyen datos de la composición de la leche (diario), la DHI mensual (mejora del rebaño lechero), y los resultados de las pruebas genómicas. Los datos económicos (la composición de la leche y los precios del sacrificio de reses) fueron recogidos a través de una base de datos externa en línea (Understanding Dairy Market, future.aae.wisc.edu). Los datos meteorológicos también se importaron a esta base de datos de bases de datos oficiales externas.

Todos los datos recogidos fueron limpiados y normalizados antes de almacenar. Seguimos diferentes pasos de normalización y edición para hacer coincidir los datos, seleccionar las variables y desarrollar conjuntos de datos legibles. Las variables clave seleccionadas para que coincidan con los datos individuales de los animales son el número de identificación vaca (ID), fecha de nacimiento (BDAT) y número de identificación electrónica (EID). Aunque la ID de la vaca es la variable más comúnmente utilizada diariamente en la toma de decisiones de gestión agrícola, puede no estar debidamente incluida en algunas fuentes de datos a nivel de la vaca. En su lugar, los números de Identificación Electrónica EID siempre se registran en los datos a nivel de vaca porque el lector de chips de radio-frecuencia identifica el EID directamente de las vacas. Para identificar las vacas, es necesario utilizar combinaciones de las diferentes variables dependiendo del software para que coincidan. Para evitar la posible duplicación de la ID de las vacas, el BDAT también se usa al hacer coincidir la ID de las vacas.

El Análisis de los Datos

Primer paso del análisis de los datos fue establecer el rendimiento de la producción de las vacas. Cualquier dato de ordeño incorrecto registrado (como la falta de EID o de sello temporal) por el sistema de ordeño se retiró antes del análisis ulterior. Los eventos de salud (mastitis y enfermedades de transición, incluyendo cetosis, abomaso desplazado, metritis, retención de la placenta, y la fiebre de leche) y los resultados de las pruebas DHI mensuales se combinaron con los datos de ordeño diario a nivel de vaca para formar un registro de rendimiento para cada vaca diariamente. Como la DMI y la lactación de cada vaca individual eran tomadas por el sistema de ordeño cada día, esas variables fueron calculadas mediante la interpolación entre dos eventos cercanos a nivel de vaca. Los cuartos infectados por mastitis clínica, la gravedad y el tipo de tratamiento fueron extraídos del registro de comentarios. Los periodos de descanso por mastitis se calcularon como días sin ordeño después del diagnóstico de la mastitis.

Los datos registraban si una vaca tenía enfermedades metabólicas (cetosis, retención de placenta, metritis, fiebre de leche, abomaso desplazado, o cojera) en el período de transición (DIM<=30), tenía mastitis en el período de transición, o tuvo mastitis durante la lactancia anterior (para vacas multíparas). La prueba Chi-cuadrado se realizó para comparar la incidencia de mastitis o enfermedades de transición históricas en la posibilidad de CM a 30-100 DIM (**30-100 CM**).

La producción lechera diaria a nivel de vaca fue editada antes de seguir con el análisis o ajuste del modelo. Los datos crudos del ordeño se recogieron sobre a nivel de la vaca en cada operación de ordeño. Aunque el protocolo consiste en ordeñar a las vacas 3 veces al día, algunas vacas pueden ser ordeñadas un mayor o menor número de veces en un día específico. Utilizando esta información, se calculó la producción lechera diaria (MY) por cada vaca por cada día. Se siguió el mismo proceso de editado utilizado con la producción de leche con la conductividad diaria de la leche a nivel de vaca (MC). En el caso del MY diario, se ajustó a un promedio móvil de 5 días para reducir la variación del día a día.

Modelos de Aprendizaje Electrónico de la Predicción de la Mastitis durante 30-100 DIM

El modelo de predicción de la mastitis fue desarrollado para detectar 30-100 CM utilizando registros de salud históricos, datos del ordeño diario (peso de leche, conductividad, y la duración de ordeño), y los resultados de la primera prueba mensual del Recuento de Células Somáticas (**FTSCS**). Los modelos logísticos múltiples utilizan variables binarias (salud del período de transición (enfermedad metabólica), la incidencia de mastitis en el período de transición, la mastitis en la lactancia anterior) y variables continuas (FTSCS, MC y MY). La variable dependiente de los modelos logísticos era un binario: si la vaca iba a tener mastitis clínica (**30-100 cm**) o no (vaca sin mastitis). El diagnóstico de mastitis DIM y de vaca sin mastitis DIM se dividió en intervalos de 10 días y sólo se utilizó el diagnóstico previo de MY de 10 días. Se utilizó una técnica de aprendizaje electrónico en estos modelos para prepararse para la predicción basada en la transmisión por secuencias de datos en tiempo real. Los modelos serían actualizados de forma permanente con la transmisión de datos, y la predicción se realizaría en tiempo real mediante la actualización de modelos. En este estudio, el conjunto de datos se dividió en conjuntos de entrenamiento y prueba (60:40). En primer lugar, se dio a los modelos logísticos el conjunto de entrenamiento para luego predecir las variables dependientes (probabilidad de desarrollar 30-100 CM o no) utilizando las variables independientes en el conjunto de pruebas. Esos modelos se evaluaron comparando la predicción de CM con la CM real a nivel de vaca en el conjunto de pruebas. En el modelo de evaluación se utilizó la tasa de falsos positivos y falsos negativos, la verdadera tasa de positivos verdaderos, y la tasa de negativos verdaderos. Los valores de corte en los modelos logísticos fueron utilizados como el umbral para justificar los resultados predichos positivos y negativos. Por ejemplo, si el valor de corte fue de 0.2, todos los resultados predichos por encima de 0.2 serían considerados como resultados positivos y los resultados predichos por debajo de 0.2 se consideran como resultados negativos.

Los modelos logísticos en este proyecto fueron utilizados en varias etapas. El modelo logístico de la primera etapa (M1) fue predecir la mastitis utilizando solamente las variables binarias y FTSCS. Los otros modelos fueron construidos basados en el primer modelo e incluyeron la MY y MC. El modelo de la segunda etapa (M2) utilizó todas las variables independientes del M1 y la MY y MC del día 5 antes del diagnóstico de mastitis (para vacas con mastitis) o del 5°-10° días en el intervalo de 10 días (para las vacas sin mastitis). En cada uno de los modelos de la 3ª a la 6ª etapa, se añadieron los modelos MY y MC para un día más cerca

de la fecha del diagnóstico (vacas con mastitis) o del 10ª día del intervalo (para vacas sin mastitis) al modelo de la etapa anterior, hasta 1 día antes de la fecha de finalización (para CM) o del 10ª día del intervalo (para vacas sin mastitis). Los modelos de la 2ª a la 6ª etapa fueron comparados para estimar la influencia de producción lechera diaria y conductividad en la predicción de la mastitis varios días antes del diagnóstico. Toda la limpieza de datos y los análisis estadísticos, el ajuste del modelo, y el modelo de evaluación se realizó mediante la utilización de R (R Core Team, 2017).

Las Explotaciones Participantes

Tres granjas lecheras de alta producción de Wisconsin participaron en este proyecto. El tamaño medio de las tres explotaciones es de 1.317 vacas en lactación por explotación. Los datos de la Granja 1 (con 2.749 vacas en lactación) fueron utilizados para ilustrar este sistema de gestión y control de mastitis. La recopilación de datos de esta explotación entre el 1 de junio de 2016 y 26 de enero de 2018 fueron utilizados para este análisis específico.

RESULTADOS Y DEBATE

Resumen Descriptivo

Basados en 976.921 registros de producción de leche (MY) y 155,279 registros relacionados con la historia clínica y de gestión, se constataron 501 casos de mastitis (30-100CM) y se encontraron 18,311 registros de producción de leche (MY) antes del diagnóstico de entre 390 vacas. Ocurrieron 49, 193, y 259 casos de 30-100CM en la 1ª, 2ª, 3ª+ lactancia, respectivamente. La media y la SD de diagnósticos 30-100 CM DIM fue de 63.99±20.64 d (Figura 1) y la incidencia de 30-100 CM fue del 9,60% (casos de CM en relación al número de lactaciones sin mastitis). El conjunto de datos recuperados incluyó 3,471 vacas con 4.718 lactancias. La granja seleccionada registró la gravedad de la mastitis en 3 niveles: leve (407 casos), moderada (91 casos) y grave (3 casos).

Eventos de salud anterior y mastitis.

De entre estos datos, el 4,35% de las vacas tuvieron al menos un CM durante el período de transición (DIM<=30). Entre todas las vacas multíparas, el 22.7% de las vacas tuvo CM en la lactancia anterior y un 32,9% de ellos tuvieron enfermedades metabólicas durante el período de transición. De entre las vacas sin mastitis, el 3,60% de las vacas tuvo CM durante el período de transición y el 21,2% sufrió de CM en la lactancia anterior, mientras que el 17,2% de las vacas 30-100 CM tuvieron CM durante el período de transición y el 40,7% habían sufrido de CM en el anterior período de lactancia. La prueba de Chi-cuadrado encontró que la historia clínica de la mastitis en el período de transición y en la lactancia anterior estaban significativamente relacionados (P<0,01), aunque la salud no estuvo relacionado (P=0,84) con 30-100 CM en este grupo de datos (dataset). Las vacas con mastitis también tuvo un mayor FTSCS que las vacas sin mastitis (2,43±2,13 vs. 1,73±1,50, P<0,01).

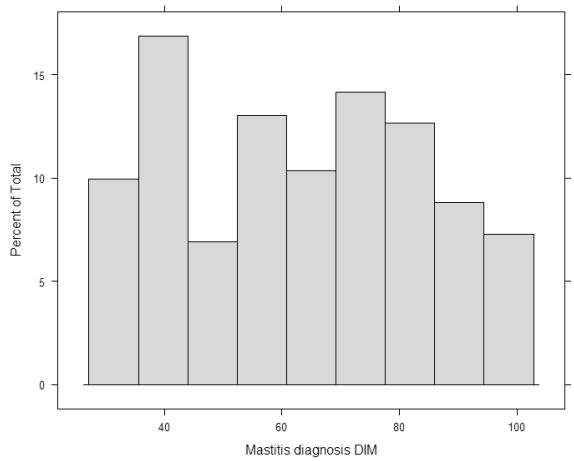


Figura 1. Histograma del diagnóstico de la mastitis clínica por días posparto (DIM).

Período de Retirada de Leche

De entre 501 casos de 30-100 CM, 437 casos tuvieron un período de retiro de leche después del diagnóstico de la CM. La media y la SD de todos los 437 períodos de retirada fueron 10,96±10,90 días por caso, que van desde 2 a 66 días con una media de 6,0 días por caso (Figura 2). El número de casos leves, moderados y graves que sufrieron un periodo de retirada después del diagnóstico del CM fue de 360, 76 y 1 durante el 30-100 DIM. La gravedad no estaba significativamente relacionada con la duración del periodo de retiro (P = 0,85). La media de la duración del período de retiro por mastitis coincidía con el período de retirada de leche debido a mastitis en la literatura (4.36 ± 2.42, Liang *et al.*, 2016).

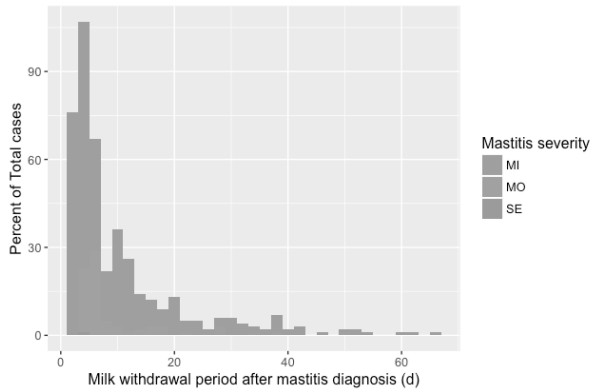


Figura 2 Periodo de retiro de leche (días, d) después de un diagnóstico de mastitis grave. Los niveles de gravedad son: leve (MI), moderada (MO) y grave (SE).

Aprendizaje Electrónico del modelo logístico preliminar para predecir resultados

El modelo logístico de la primera etapa (M1) predijo 30-100 CM utilizando sólo los registros de la historia clínica de salud (mastitis y enfermedades metabólicas durante el período de transición), el número de lactación y la FTSCS. El conjunto de pruebas incluyó 2.057 registros de vaca-lactación (~ 192 30-100 CM y 2.065 vacas sin mastitis). Todas las variables en el modelo M1 afectan a las probabilidades de CM significativamente (P<0,01) excepto la salud en el período de transición (P = 0,11). La historia clínica de la mastitis en la lactancia anterior o el

período de transición de la lactación actual aumentaron las probabilidades de 30-100 CM (P<0,01). Las vacas multíparas tenían mayores probabilidades de desarrollar CM que las vacas primíparas; una mayor FTSCS también condujo a mayores probabilidades de 30-100 CM (P<0,01). La Figura 1 es la relación de la tasa de positivos verdaderos y la tasa de falsos positivos con diferentes valores de corte del modelo logístico. Esto ilustra que los valores de corte ideales están entre 0,10 a 0,15. Los resultados del modelo M1 son útiles para las explotaciones que no tienen datos del nivel de ordeño diario. Utilizando solamente los registros de la salud, la gestión y la prueba mensual, las tasa de positivos verdaderos del M1 alcanzó el 60%, mientras que el control de la tasa de falsos positivo fue de alrededor del 20% (Figura 3). Los productores pueden utilizar este resultado para marcar a las vacas con alto riesgo de desarrollar 30-100 CM al comienzo de la lactancia.

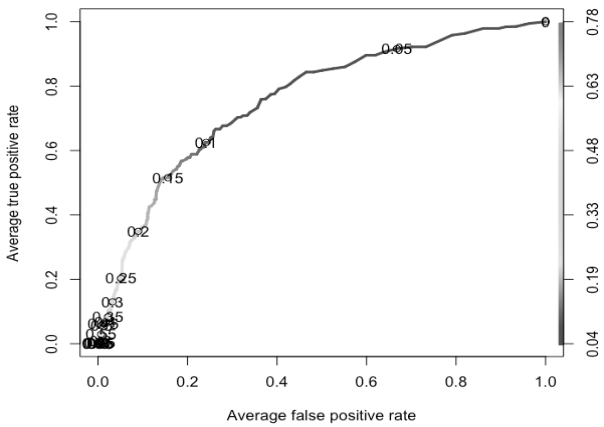


Figura 3. La relación entre la tasa de verdaderos positivos y la tasa de falsos positivos en los resultados del modelo de la primera fase con diferentes valores de corte de probabilidad.

La comparación de los modelos M2-M6 se ilustra en la figura 4. La tasa de predicciones con positivos verdaderos mejoró con la misma tasa de falsos positivos según se acercaba al diagnóstico, especialmente entre 2 días a 1 día antes del momento del diagnóstico. Al incluir el MY diario y la MC en el modelo de predicción hace posible predecir los 30-100 CM en tiempo real; sin embargo, también aumentó en gran medida el tamaño de los datos, especialmente en el caso de las vacas sin mastitis porque no las vacas sin mastitis tienen varios intervalos de 10 días entre 30-100 DIM. Aunque la tasa de falsos positivos parecía baja (Figura 4), el desequilibrio de los datos debido a la alta proporción de registros sin mastitis (94,3% de todos los datos del intervalo de 10 días) causó gran número de falsos positivos a nivel de vaca, lo que significaba que las vacas sin mastitis eran consideradas como vacas 30-100 CM. Con el valor de corte en 0.017, el modelo M6 (1 día antes del diagnóstico) alcanzó el 70% de verdaderos positivos (92 de 131 vacas con mastitis fueron predichos como mastitis) y una tasa de falsos positivos del 22% (fueron predichos como 30-100 CM 1.902 de 8,409 NSC con intervalo de 10 días). Veinte veces más vacas sin mastitis fueron consideradas incorrectamente como vacas con mastitis. Para resolver este problema, el coste de la mala clasificación y otros algoritmos serán probados en este grupo de datos para mejorar la precisión de la predicción en el futuro.

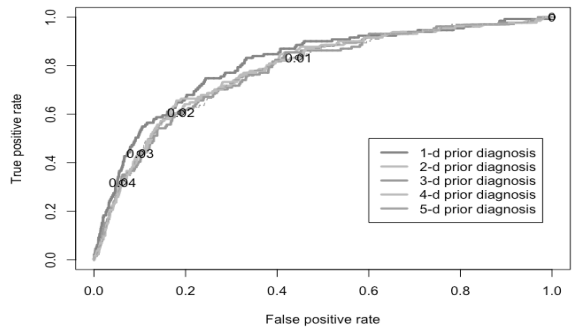


Figura 4. La relación entre la tasa de verdaderos positivos y la tasa de falsos positivos en los resultados de los modelos de la segunda fase que predijeron la mastitis varios días antes del diagnóstico con diferentes valores de corte de probabilidad.

CONCLUSIONES

Este estudio constata la capacidad de la Virtual Dairy Brain Project en lo que refiere a la investigación y la gestión práctica de una explotación. La historia de la mastitis clínica está muy relacionada con los nuevos casos de mastitis clínica. Un recuento alto de células somáticas al comienzo de la lactancia también está positivamente relacionado con posibles casos de mastitis clínica. El registro apropiado de la salud y de la gestión podría ayudar a los granjeros lecheros a identificar vacas que corren un alto riesgo sufrir de mastitis clínica. La recopilación diaria de datos a nivel de vaca mejora la precisión de la predicción de la mastitis; sin embargo, se necesitan más investigaciones para mejorar los modelos de predicción.

BIBLIOGRAFÍA

- Bar, D., Y.T. Gröhn, G. Bennett, R.N. González, J.A. Hertl, H.F. Schulte, L.W. Tauer, F.L. Welcome, and Y.H. Schukken. 2008. Effects of Repeated Episodes of Generic Clinical Mastitis on Mortality and Culling in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:2196–2204. doi:10.3168/jds.2007-0460.
- Halasa, T., K. Huijps, O. Østerås, and H. Hogeveen. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet. Q.* 29:18–31. doi:10.1080/01652176.2007.9695224.
- Harmon, R.J. 1994. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts.*J. Dairy Sci.* 77:2103–2112. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8.
- Liang, D., L.M. Arnold, C.J. Stowe, R.J. Harmon, and J.M. Bewley. 2016. Estimating US dairy clinical disease costs with a stochastic simulation model. *J. Dairy Sci.* 100:1472–1486. doi:10.3168/jds.2016-11565.
- Lukas, J.M., J.K. Reneau, R. Wallace, D. Hawkins, and C. Munoz-Zanzi. 2009. A novel method of analyzing daily milk production and electrical conductivity to predict disease onset. *J. Dairy Sci.* 92:5964–5976. doi:10.3168/jds.2009-2066.
- Miekley, B., I. Traulsen, and J. Krieter. 2013. Mastitis detection in dairy cows: The application of support vector machines. *J. Agric. Sci.* 151:889–897. doi:10.1017/S0021859613000178.
- Norberg, E., H. Hogeveen, I.R. Korsgaard, N.C. Friggens, K.H.M.N. Sloth, and P. Løvendahl. 2004. Electrical

Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *J. Dairy Sci.* 87:1099–1107. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7.

- R Core Team. 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Found. Stat. Comput.*version 3:3503. doi:10.1007/978-3-540-74686-7.
- Rajala-Schultz, P.J., Y.T. Gröhn, C.E. McCulloch, and C.L. Guard. 1999. Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:1213–1220. doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75344-0.

ENGLISH VERSION

Predicting Mastitis Using a Real-Time Data Warehouse

Liang, D.[1], A., Golechha[2], V. E. Cabrera[1]

[1]Department of Dairy Science; [1]Department of Computer Science

University of Wisconsin-Madison

ABSTRACT

This project aims to develop a data analyzing procedure to monitor clinical mastitis **(CM**) and predict the onset of cow-level CM using daily milk production (**MY**), daily milk conductivity (**MC**), monthly test-day results, and health records from an integrated data warehouse hosted at the University of Wisconsin-Madison. Milking data and the management records are being transferred from dairy farm computers to our server on a daily-basis since May 2017. With 976,921 daily cow-level MY and 155,279 historical health and management related records in a farm, 501 CM cases occurring between 30 and 100 days postpartum (**30-100 CM**) and 18,311 MY records prior to the diagnosis were found from 390 cows. Forty-nine, 193, and 259 cases occurred in the 1st, 2nd, and 3rd+ lactation, respectively. The mean and SD of the days postpartum (**DIM**) diagnosis was 63.99±20.64 and the incidence was 9.60% (CM cases over the number of non-mastitis cow). Data indicating if the cow had CM in the previous lactation (for multiparous) or during the transition period (first 30 DIM) were included in the model. First month dairy herd improvement (**DHI**) test somatic cell score (**FTSCS**) were also included. Mastitis diagnosis DIM and non-mastitis DIM were broken into 10-day intervals and only the 10-day MY prior diagnosis was used. Data analyses were performed using R (R Core Team) fitting a logistic regression model. First-stage model predicted CM only using categorical health records and FTSCC. In the second-stage model, 5 CM prediction windows (1 to 5 days before diagnosis) were compared. History of CM in the previous lactation and during the first 30 DIM of the current lactation were significantly associated with 30-100 CM ($p<0.01$). FTSCS was significantly higher in the 30-100 CM cows than the non-mastitis cows (2.43±2.13 vs. 1.73±1.50). The logistic regression model was tested on a held-out test set, which contained 40% of the original data. The first-stage model showed the strong relationship between mastitis history, FTSCC, and CM, which could help dairy producers identify cows with high risk of 30-100 CM. The second-stage models were promising and showed the improving prediction accuracy as the diagnosis window getting closer to the actual diagnosis day. However, the second-stage models need further adjustment to identify the predicted false positive cows from the true positive cows.

Key words: logistic regression, machine learning, early lactation

INTRODUCTION

Mastitis is mostly caused by pathogenic bacteria invading and multiplying in the mammary gland (Harmon, 1994). Mastitis is a common and expensive dairy disease worldwide (Rajala-Schultz *et al.*, 1999; Halasa *et al.*, 2007). The average cost of one clinical mastitis (**CM**) case was 325.76±71.12 for primiparous cows and 426.50±80.27 for multiparous cows on the U.S. dairy farms (Liang *et al.*, 2016). Constantly monitoring mastitis prevalence and high-risk cows are essential in farm management to understand herd-level udder health condition and early detection of potential cases.

Research has engaged mastitis history, milk production (**MY**), milk electronic conductivity (**MC**), and milk Somatic Cell Count to predict mastitis on cow-level (Norberg *et al.*, 2004; Miekley *et al.*, 2013)and it may be considered as a potential trait in a breeding program where selection for improved udder health is included. In this study, various EC traits were investigated for their association with udder health. In total, 322 cows with 549 lactations were included in the study. Cows were classified as healthy or clinically or subclinically infected, and EC was measured repeatedly during milking on each quarter. Four EC traits were defined; the inter-quarter ratio (IQR. Mastitis is often a recurrent disease (Bar *et al.*, 2008). Cows with previous mastitis showed higher possibilities of developing repeating cases, and cows with transition disease or low transition performance index also had higher possibilities of developing mastitis case in the same lactation. Lukas *et al.* (2009) found MY and MC change around 10 days before CM before diagnosis. Miekley *et al.* (2013)a sub-discipline in the field of artificial intelligence, for the early detection of mastitis. Data used were recorded on the Karkendamm dairy research farm (Kiel, Germany proposed a machine learning model to detect CM using daily MY, MC, and mastitis history. Results from this study showed the potential of predicting CM using cow-level data and management records.

Dairy farms have embraced technological innovations and nowadays count with massive permanent data streams. Tremendous amount of dairy farm related data is constantly generated and includes on-farm data such as milking, feeding, or reproduction, and off-farm data such as weather and prices. However, data integration across multiple sources is insufficient on dairy farms that each data source has an independent software/report that not communicating effectively with each other. A comprehensive and easy accessible database is the foundation of data management and further analysis. Real-time data collection and integration enables the farm's decision-making to fast react or anticipate changes on cow performances (i.e., health or reproduction), environment (i.e., heat stress), and market (i.e., milk or feed price).

This project aims to develop a mastitis monitoring and management system using a near real-time data warehouse established in the Virtual Dairy Farm Brain project in University of Wisconsin-Madison.

MATERIAL AND METHODS

Data Warehouse

The Virtual Dairy Farm Brain project collects near real-time on-farm and off-farm data and designs farm-specific data warehouse to properly store those data. The on-farm data sources are collected on daily basis, including herd management records (health, reproduction, etc.), milking data, and feed intake and diet cost data. The off-farm data sources were milk composition data (daily), monthly DHI (dairy herd improvement) test data, and genomic testing results. Economic data (milk composition price and culling prices) were collected through an external online data base (Understanding Diary Market, future.aae.wisc.

edu). Weather data were also imported into this database from official external databases.

All the collected data were cleaned and normalized before storing. We follow different normalizing and editing steps to match the data, select the variables, and develop readable datasets. The key variables selected to match the data from individual animals are cow identification number (ID), date of birth (BDAT), and electronic identification number (EID). Although cow ID is the most commonly variable used in the daily farm management decision-making, it may not be properly included in some cow-level data sources. Instead, EID is always recorded in the cow-level data because the radio-frequency chip reader identifies EID directly from cows. To identify the cows, it is necessary to use combinations of the different variables depending on the software to match. To avoid the potential cow ID duplication, BDAT is also used when matching cows ID.

Data Analyses

First step of data analyses was to retrieve cow's production performance. Incorrect recorded milking data (such as missing EID or missing recorded time stamp) by the milking system was removed before further analysis. Health events (mastitis and transition diseases, including ketosis, displaced abomasum, metritis, retained placenta, and milk fever) and monthly DHI test-day results were combined with the cow-level daily milking data to form a performance log for each cow on daily basis. As individual cow's DIM and lactation by the milking system every day, those variables were calculated via interpolation between two nearby events on cow-level. Clinical mastitis infected quarter(s), severity, and treatment type was extracted from the record remarks. Mastitis withdrawal periods were calculated as the missing milking days after mastitis diagnosis.

Data recorded whether a cow had metabolic diseases (ketosis, retained placenta, metritis milk fever, displaced abomasum, or lameness) in transition period (DIM<=30), had mastitis in transition period, or had mastitis in the previous lactation (for multiparous cows). Chi-square test was conducted to compare the incidence of historical mastitis or transition diseases on the possibility of CM from 30-100 DIM (**30-100CM**).

Cow-level daily milk production was edited before further analysis or model fitting. The raw milking data was collected on cow-level at each milking. Although the protocol is milking cows 3 times a day, some cows may be milked more or less times on a specific day. Using this information, the daily milk production (MY) was computed per each cow per each day. Cow-level daily milk conductivity (MC) followed the same editing process as the milk production. In the case of daily MY, it was adjusted as the 5-day rolling average to reduce the day-to-day variance.

Machine Learning Models on Mastitis Prediction during 30-100 DIM

Mastitis prediction model was developed to detect 30-100CM using historical health records, daily milking data (milk weight, conductivity, and milking duration), and the first monthly test-day results Somatic Cell Score (**FTSCS**). Multiple logistic models used binary variables (transition period health (for metabolic disease), mastitis incidence in transition period, mastitis in the previous lactation) and continuous variables (FTSCS, MC, and MY). The dependent variable of the logistic models was a binary: whether the cow was going to have clinical mastitis (**30-100CM**) or not (non-mastitis cow). Mastitis diagnosis DIM and non-mastitis cow DIM were broken into 10-day intervals and only the 10-day MY prior diagnosis was used. A machine learning technique was used in those models to prepare for the real-time data streaming prediction. The models would be repeatedly fitted with the continuously data streaming, and the prediction would be made on the real-time using the updating models. In this study, the dataset was split into training and testing sets (60:40). Logistic models were firstly fitted with the training set then predict the dependent variables (probabilistic of developing 30-100CM or not) using the independent variables in the testing set. Those models were evaluated by comparing the predicted CM with the actual CM on cow-level in the testing set. False positive rate, false negative rate, true positive rate, and true negative rate were used in the model evaluation. Cut-off values in the logistic models were used as the threshold of justify positive and negative predicted results. For example, if the cut-off value was 0.2, all the predicted results above 0.2 would be considered as the positive results and the predicted results below 0.2 would be considered as the negative results.

Logistic models in this project were used in multiple-stages. The first-stage logistic model (M1) was to predict mastitis only using the binary variables and FTSCS. The other models were built based on the first model and included MY and MC. The second stage model (M2) used all the independent variables in M1 and the MY and MC of 5-day prior mastitis diagnosis (for mastitis cows) or the 5th-10th days in the 10-day interval (for non-mastitis cows). In each of 3rd to 6th stage models, MY and MC of one-day closer to the diagnosis date (for mastitis cows) or 10th d in the interval (for non-mastitis cows) was added into the model on the previous stage, until 1-day before the ending date (for CM) or the 10th d in the interval (for non-mastitis cows). The 2nd to 6th stage models were compared to estimate the influence of daily milk production and conductivity on predicting mastitis several days before diagnosis. All the data cleaning and statistical analysis, model fitting, and model evaluation were conducted using R (R Core Team, 2017).

Participating Farms

Three Wisconsin high-producing dairy farms participated in this project. The average size of the three farms is 1,317 lactating cows per farm. Data from Farm 1 (with 2,749 lactating cows) was used to illustrate this mastitis management and monitoring system. Data collection on this farm between 1 June 2016 and 26 January 2018 were used for this specific analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Descriptive Summary

With 976,921 daily cow-level MY and 155,279 historical health and management related records, 501 30-100CM cases and 18,311 MY records prior to the diagnosis were found from 390 cows. Forty-nine, 193, and 259 30-100CM cases occurred in the 1st, 2nd, and 3rd+ lactation, respectively. The mean and SD of 30-100CM diagnosis DIM were 63.99±20.64 d (Figure 1) and the incidence of 30-100CM was 9.60% (CM cases over the number of non-mastitis lactations). The retrieved dataset included 3,471 cows with 4,718 lactations. The selected farm recorded mastitis severity in 3 levels: mild (407 cases), moderate (91 cases), and severe (3 cases).

Previous health events and mastitis

In this dataset, 4.35% of the cows had at least one CM during the transition period (DIM<=30). For all the multiparous cows, 22.7% cows had CM in the previous lactation and 32.9% of them had metabolic diseases during the transition period. For the non-mastitis cows, 3.60% cows had CM during the transition period and 21.2% had CM in the previous lactation whereas 17.2% of the 30-100CM cows had CM during the transition period and 40.7% had CM in the previous lactation. The Chi-

square test found that the history of mastitis in the transition period and previous lactation were significantly associated (P<0.01) although health was not associated (P=0.84) with 30-100 CM in this dataset. Mastitis cows also had a greater FTSCS than the non-mastitis cows (2.43±2.13 vs. 1.73±1.50, P<0.01).

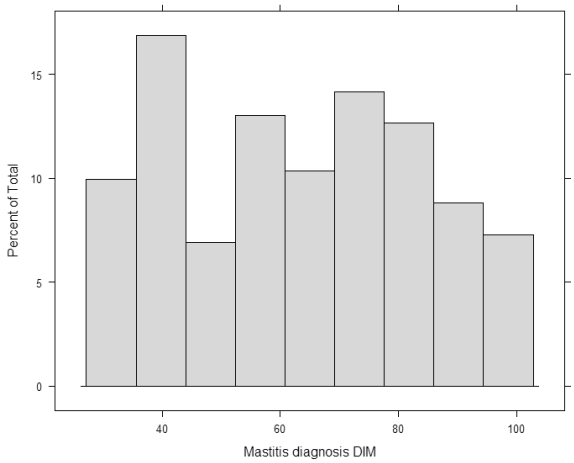


Figure 1. Histogram of clinical mastitis diagnosis by days postpartum (DIM).

Milk Withdrawal Period

From the 501 30-100CM cases, 437 cases had a milk withdrawal period after the CM diagnosis. The mean and SD of all the 437 withdrawal periods were 10.96±10.90 days per case, ranging from 2 to 66 days with the median at 6.0 days per case (Figure 2). The numbers of mild, moderate, and severe cases were 360, 76, and 1 during 30-100 DIM that had a milk withdrawal period after CM diagnosis. Severity was not significantly related with the withdrawal period length (P = 0.85). The median length of mastitis withdrawal period was in agreement with the milk withdrawal period due to mastitis in the literature (4.36 ± 2.42, Liang *et al.*, 2016).

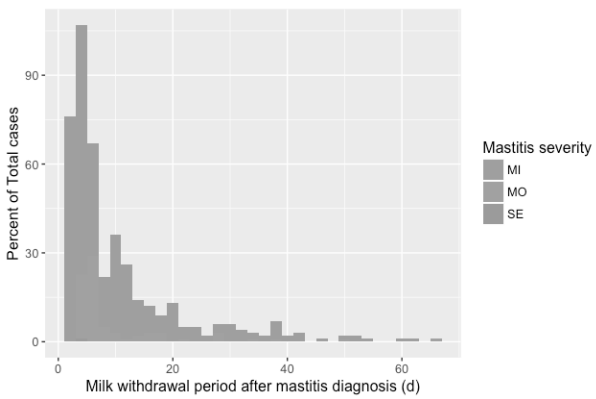


Figure 2 Milk withdrawal period (days, d) after mastitis diagnosis by mastitis severity. Severity levels are: mild (MI), moderate (MO), and severe (SE).

Preliminary Machine learning logistic model predicting results

The first-stage logistic model (M1) predicted 30-100 CM only using historical health (mastitis and metabolic diseases during transition period) records, lactation number, and FTSCS. The testing set included 2,057 cow-lactation records (~192 30-100 CM and 2,065 non-mastitis). All the variables in M1 model were influencing the CM probabilities significantly (P<0.01) except transition period health (P = 0.11). Mastitis history in the previous lactation or the transition period of the current lactation both increased the 30-100CM probabilities (P<0.01). Multiparous cows had greater probabilities of developing CM than primiparous cows; greater FTSCS also led to a greater 30-100 CM probabilities (P<0.01). Figure 1 is the trade-off relationship of true positive rate and false positive reate with different logistic model cut-off values, which illustrates the optimal cut-off values are between 0.10 to 0.15. Results from the M1 model are useful for the farms that do not have daily cow-level milking data. Only using the health, management, and monthly test-day records, M1 true positive rate reached 60% while controlling the false positive rate around 20% (Figure 3). Producers can use this result to mark cows with high-risk of developing a 30-100 CM at the beginning at a lactation.

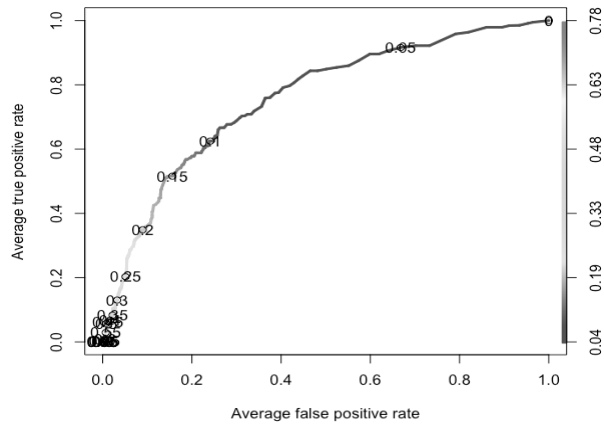


Figure 3. The relationship between true positive rate and false positive rate in the first-stage model results with different logistic probability cut-off values.

The comparison of models M2-M6 is illustrated in Figure 4. Prediction true positive rate improved with the same false positive rate as closer to the diagnosis, especially from 2-day to 1-day prior to the diagnosis time. Including daily MY and MC into the prediction model enables the capability of predicting 30-100 CM on real-time, however, it also largely increased the data size, especially for the non-mastitis cows because non-mastitis cows have multiple 10-day intervals between 30-100 DIM. Although false positive rate seemed to be low (Figure 4), the unbalancing data due to the high proportion of non-mastitis records (94.3% of all the 10-day interval data) caused large number of false positive predicted results on cow-level, which meant non-mastitis cows were predicted as 30-100 CM cows. With cut-off value at 0.017, the M6 model (1-day prior diagnosis) reached 70% true positive rate (92 of 131 mastitis cows were predicted as mastitis) and 22% false positive rate (1,902 out of 8,409 NSC 10-day interval-level records were predicted as 30-100 CM). Twenty-times more non-mastitis cows incorrectly predicted as mastitis cow. To solve this problem, cost of misclassification and other algorithms will be tested on this dataset to improve the prediction accuracy in the future.

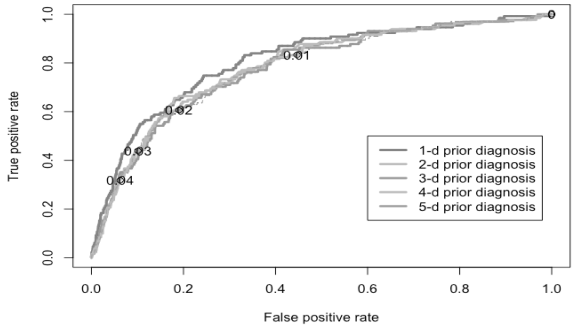


Figure 4. The relationship between true positive rate and false positive rate in the second-stage models that predicted mastitis several days prior diagnosis with different logistic probability cut-off values.

CONCLUSIONS

This study illustrated the Virtual Dairy Brain project's capability in research and practical farm management. History of clinical mastitis is highly related with new clinical mastitis cases. High somatic cell score at the beginning of a lactation is also positively related with potential clinical mastitis cases. Proper recording of health and management events could help dairy farmers identify cows in high risk of clinical mastitis. Daily cow-level data collection improves the mastitis prediction accuracy; however, further research is needed to amend the predicting models.

REFERENCES

- Bar, D., Y.T. Gröhn, G. Bennett, R.N. González, J.A. Hertl, H.F. Schulte, L.W. Tauer, F.L. Welcome, and Y.H. Schukken. 2008. Effects of Repeated Episodes of Generic Clinical Mastitis on Mortality and Culling in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:2196–2204. doi:10.3168/jds.2007-0460.
- Halasa, T., K. Huijps, O. Østerås, and H. Hogeveen. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet. Q.* 29:18–31. doi:10.1080/01652176.2007.9695224.
- Harmon, R.J. 1994. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *J. Dairy Sci.* 77:2103–2112. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8.
- Liang, D., L.M. Arnold, C.J. Stowe, R.J. Harmon, and J.M. Bewley. 2016. Estimating US dairy clinical disease costs with a stochastic simulation model. *J. Dairy Sci.* 100:1472–1486. doi:10.3168/jds.2016-11565.
- Lukas, J.M., J.K. Reneau, R. Wallace, D. Hawkins, and C. Munoz-Zanzi. 2009. A novel method of analyzing daily milk production and electrical conductivity to predict disease onset. *J. Dairy Sci.* 92:5964–5976. doi:10.3168/jds.2009-2066.
- Miekley, B., I. Traulsen, and J. Krieter. 2013. Mastitis detection in dairy cows: The application of support vector machines. *J. Agric. Sci.* 151:889–897. doi:10.1017/S0021859613000178.
- Norberg, E., H. Hogeveen, I.R. Korsgaard, N.C. Friggens, K.H.M.N. Sloth, and P. Løvendahl. 2004. Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *J. Dairy Sci.* 87:1099–1107. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7.
- R Core Team. 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Found. Stat. Comput.* version 3:3503. doi:10.1007/978-3-540-74686-7.
- Rajala-Schultz, P.J., Y.T. Gröhn, C.E. McCulloch, and C.L. Guard. 1999. Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:1213–1220. doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75344-0.

SIGUE SIENDO TODAVÍA EL SCC EL INDICADOR PRINCIPAL DE LA SALUD DE LA UBRE?

Andrew Biggs MRCVS BVSc

Grupo de Veterinarios Vale. Tiverton, Devon EX164LF UK

¿Cuáles son las opciones para vigilar la salud de la ubre?

Un indicador de la salud de la ubre ideal puede utilizarse para detectar anomalías en la salud de la ubre, como un suceso puntual o utilizarse para supervisar los cambios en el estado de salud de la ubre en mediciones repetidas en el tiempo. Para ser útil como instrumento de vigilancia para medir los cambios en la salud de la ubre en el tiempo el indicador debe ser fácil y barato, ideal para utilizar repetidamente con buena sensibilidad y especificidad para el indicador de medida que para los fines de este documento es la mastitis o inflamación de la ubre.

Los constituyentes de la leche como mantequilla, proteínas, lactosa y minerales pueden ser afectados por otros factores distintos de la mastitis como la edad de la vaca, la estación, la nutrición y la etapa de lactancia y por lo tanto no son generalmente indicadores útiles de salud de la ubre, en cualquier punto o para fines de vigilancia a lo largo del tiempo.

Otros componentes de la leche que se ven menos afectados por factores distintos de la mastitis incluyen el recuento de células somáticas (SCC), lactato deshidrogenasa (LDH), N-acetil-β-d-glucosaminidasa (NAGase) y de la fosfatasa alcalina (AP).Sin embargo, no están sin influencias de confusión tales como el mes de producción, y los días en leche influyen significativamente en la actividad de LDH, NAGase y SCC en vacas sanas y en las clínicamente mastiticas.En vacas sanas, la actividad de LDH, NAGase y SCC comienza a un nivel alto inmediatamente después del parto y disminuye a niveles bajos de aproximadamente 30-40 días después del parto. Como era de esperar, como indicadores de la salud de la ubre los tres parámetros aumentan debido a la mastitis clínica. Sin embargo la actividad NAGase tiene una variación numéricamente superior en vacas sanas que en vacas con mastitis clínica mientras que la relación entre la actividad LDH y SCC fue mayor en la leche con mastitis que en las vacas sanas. Actividad LDH tiene una mayor sensibilidad de que la actividad NAGase (73-95% v. 35-77%), mientras que especificidades estaban en un rango similar (92-99%).Además, las respuestas para la actividad de LDH eran más resistentes a los cambios en el valor umbral que las de la actividad de NAGase. Estos tres indicadores tienen potencial para la detección automática en línea en tiempo real de la mastitis sin embargo los sistemas de ordeño que se utilizan tienen una gran influencia sobre las prácticas donde se adaptan mejor.

Aunque la determinación del SCC de laboratorio es regular (más comúnmente mensual) como parte de un paquete de DHI se ha convertido en el elemento básico para monitorizar la salud de la ubre del rebaño lechero moderno no hay costes insignificantes en la recogida y procesamiento de las muestras de leche de cada vaca lactante en una manada mensualmente. Naturalmente, hay otros beneficios además de la vigilancia de la salud de la ubre como el impacto nutricional de la leche en otros componentes lácteos como la grasa y proteínas, monitorización de enfermedades infecciosas o análisis de hormonas de fertilidad.

Otros indicadores de la salud de la ubre pueden ser muy simples en cuanto a la observación visual directa de la ubre, que quizás sea mejor descrita como detección en lugar de diagnóstico. A menudo, hay un grado de cruce entre el uso común de los términos detección y diagnóstico aunque estrictamente la detección es la identificación de una infección intramamaria generalmente por el reconocimiento de los efectos de los procesos inflamatorios resultantes mientras que el diagnóstico se centra en la identificación de un patógeno causal probable.

Epidemiología

Históricamente la diferenciación entre el comportamiento de los patógenos era entre contagiosos y ambientales con ninguna distinción en cuanto al momento en el ciclo de producción en el que se originaron las infecciones de forma predominante.

El software de gestión del rebaño como Daisy de Universidad de Reading tenía un módulo de mastitis en 1994 en el que el autor estaba muy involucrado con el desarrollo en el que analizó los días en leche (DIM) y los casos que ocurrieron y los diferenció en un índice (primer caso en la lactancia) y casos repetidos y partes recurrentes. El DIM se dividió primero de 7 días, de 7 a 30 días, de 31 a 90 días, más de 90 días y en período seco. Es evidente que las mastitis múltiples eran más frecuente en la lactancia temprana y que los patógenos ambientales tenían más probabilidades de ser la causa de los casos en lactancia temprana y los múltiples. Sin embargo, tras la identificación de investigación de cepas por Bradley & Green, mostrando que el índice casos clínicos de lactancia temprana pueden originarse desde el período seco quedó claro que el origen ya fuera de (período seco o lactancia) era tan importante como el comportamiento (contagiosas o ambientales).El comportamiento contagioso fue tipificado por la propagación de vaca a vaca y un legado de vacas persistentemente infectadas por vaca a vaca y dando la posibilidad de que se propagara de vaca a vaca mientras que el comportamiento ambiental se caracteriza generalmente por infecciones de corta vida y no legado de infecciones persistentes y sin importancia epidemiológica en la propagación de vaca a Vaca.

Hay excepciones a esto cuando lo que tradicionalmente se consideran patógenos ambientales que tienen como resultado infecciones persistentes que luego tienen el potencial de comportarse de una manera contagiosa. Estas infecciones hasta ahora ambientales tales como estreptococo Uberis e incluso Klebsiella pueden en algunos casos dar lugar a un legado porque algunas cepas se convierten en infecciones persistentes en la vaca adaptadas/ubres dándoles la oportunidad de actuar de una manera contagiosa.

Uso de la epidemiología

Los paquetes interherd de software en años más recientes (desarrollados por Daisy) inteherd plus, herd Companion Total Vet Dairy Comp305 tienen todos los módulos de mastitis que utilizan la epidemiología clínica y subclínica (SCCs) para hacer diagnóstico de supuestos de reconocimiento de patrones para indicar si las cuestiones de la mastitis en el rebaño son predominantemente de origen de período seco o en período de lactancia y luego si el comportamiento es predominantemente contagioso o ambiental.

Detección

Se pueden utiliza métodos de detección en los casos de mastitis clínica, mastitis subclínica o ambas.

Los métodos de detección de casos clínicos se realizan generalmente al lado de la vaca y en la granja e incluyen:-

Observación humana

Evaluación visual simple / observación de leche, ubre y vaca.

Sistemas automatizados.

- La detección automatizada se encuentra principalmente en AMS aunque algunas se encuentran en los salones de ordeño convencionales e incluyen la conductividad y el rendimiento de la leche y más comúnmente en los sistemas de AMS color de la leche, temperatura, tiempo de ordeño total y tiempo de ordeño muerto por cuarto (tiempo desde el acoplamiento de la ordeñadora y flujo de leche)

Los métodos sub-clínicos más frecuentes son los métodos de detección basados en la evaluación del recuento de células somáticas (SCC) del contenido de la leche a partir de un compuesto de todas las muestras entremezcladas de las cuatro ubres (vaca SCC [ICSCC]) o en un cuarto nivel. Algunos pueden realizarse al lado de la vaca en la granja sin embargo los más complejos sistemas de detección implican ciertos análisis de laboratorio y comúnmente se repiten regularmente (mensualmente es la más común) a un nivel de vaca para determinar el carácter dinámico de por ejemplo el SCC.

Ejemplos de sub-detección clínica incluyen:-

Observación humana

- Prueba de Leche de California (CMT) o rápida (RMT) es simple sistema de detección al lado de la vaca es muy barato y como su nombre indica se realiza rápidamente. No tiene limitaciones de sensibilidad y se considera generalmente para detectar SCC a alrededor de 300 a 400.000 células/ml

Termografía de la Piel de la Ubre

- Utiliza herramientas de software para gráficos, herramientas de análisis geométrico (AGCS: polígonos, rectángulos, líneas) dentro de las imágenes termográficas para identificar el aumento de la temperatura de la piel de la ubre. Los resultados se obtienen en cuestión de segundos desde que la imagen es tomada. Las cámaras pueden colocarse en puertas de entrada o salida o montados sobre sistemas de AMS.

Pruebas de laboratorio

- El recuento de células somáticas individual de la vaca (ICSCC) fue introducido en el Reino Unido por la National Milk Records (RMN) en 1989/90 y el autor ensayó su uso antes de su lanzamiento y estuvo involucrado en el desarrollo de parámetros de análisis basados en papel, incluyendo "sub-infecciones clínicas Aparentemente nuevas" (ANSI), que ahora denominaremos "Noticias". El número de ANSI que ocurrieron cada mes fueron supervisados y registrados anotando manualmente los registros individuales de SCC del rebaño .Este sistema manual fue sustituido a medida que los paquetes de software como Interherd, (desarrollado de Daisy de la Reading University) Interherd plus, Herd Companion y Total Vet DairyComp305 desarrollaron módulos de análisis integrales SCC que rutinariamente registran los datos mensuales de cada vaca .Estos módulos asignan a las vacas a uno de cuatro grupos; Nueva, en primer lugar, Repite y crónica y, a continuación, utiliza el patrón de reconocimiento (análisis de la dinámica de cómo estos grupos varían en magnitud a lo largo del tiempo) que da ideas de cómo se están comportando los patógenos de la mastitis en el rebaño, indicando si son de origen predominantemente seco o de lactancia y si están exhibiendo un comportamiento predominantemente contagioso o medioambiental.
- El diferencial leucocitario (MLD) - Leche QScoutes es un desarrollo más reciente que al igual que en la medicina humana identifica y diferencia a los leucocitos (glóbulos blancos), en este caso en la leche, la identificación de tipos celulares y elevados ratios de tipo celular que, con el uso de algoritmos, puede indicar infección. Esto podría, con todas las salvedades y complejidades de la repercusión de la prevalencia del patógeno dentro de un rebaño, la exactitud predictiva de los algoritmos y los riesgos de la terapia vaca de cuarto seco, puede ser utilizada como un cuarto nivel de diagnóstico y podría tener potencial para combatir la terapia de vaca seca a nivel parcial cuando sea apropiada.

Diagnóstico

Se pueden utiliza métodos de detección en los casos de mastitis clínica, mastitis subclínica o ambas.

A diferencia de la detección de la mastitis clínica en particular, donde el tiempo de evaluación real visual al lado de la vaca / la observación es el método más comúnmente utilizado en la actualidad, el diagnóstico se realiza raramente a tiempo real, o al lado de la vaca sin embargo, es probable sea así en el futuro con los avances tecnológicos.

Los métodos de diagnóstico más comunes incluyen las siguientes técnicas de laboratorio:-

Cultivo bacteriológico

- El cultivo es a menudo considerado como el estándar de oro en todo el mundo. Las muestras de leche se inoculan en una variedad de medios de agar de diagnóstico y son incubados para facilitar el crecimiento y la posterior identificación de los potenciales microbios causales. Los resultados son en unidades formadoras de colonias (cfu) por ml donde un microbio presente en la leche cuando se inocula en placas de agar tiene el potencial para formar una unidad formadora de colonias. La técnica no tiene ningún límite para las especies de diagnóstico que puede ser identificadas siempre que se utilice un medio de cultivo y pruebas de diagnóstico adecuadas. Existen muchas habilidades necesarias que sólo son adquiridas y acumuladas con la experiencia a fin de lograr no sólo una precisa identificación de microbios, sino también si el microbio es probable que se hayan originado desde el entorno intramamario o puede ser un contaminante y, por último, si tiene potencial importancia epidemiológica en la vaca y finalmente en el rebaño.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

- El ADN bacteriano es extraído de las muestras de leche y luego se mezcla con "primers" (iniciadores) que son plantillas de las secuencias de nucleótidos de conocidas especies bacterianas causantes de mastitis. Los primers duplicados (ciclos) haciendo coincidir las secuencias hasta que se hagan suficientes copias para que puedan combinarse con una especie bacteriana en la biblioteca de secuencias bacterianas conocidas. La PCR copiará las

secuencias de bacterias tanto vivas como muertas, lo que agrega complejidad a la interpretación de los resultados, ya que una infección bacteriana activa puede no estar presente actualmente en la glándula mamaria.

La PCR, en contraste con los métodos de cultivo, requiere una buena práctica de laboratorio (procesamiento higiénico limpio de las muestras y seguir un procedimiento operativo estándar) en lugar de experiencia para lograr resultados exactos. La gama de microbios detectada con PCR (diagnóstico de mastitis en común con todos los diagnósticos de PCR) está limitada al número de los primers utilizados. En el Reino Unido esto es comúnmente 12 (11 especies bacterianas y el gen de resistencia a los ß-lactámicos). Esto tiene una serie de consecuencias, incluyendo la restricción de la capacidad de diagnóstico a las 11 primers de patógenos en el kit de PCR y obstaculizando la capacidad de identificar una muestra como contaminada porque los microbios contaminantes no estarán incluidos en los 11 primers de diagnóstico de microbios. Los resultados se dan como un valor de umbral de ciclado (Ct) con valores de Ct más altos que indican la necesidad de realizar más ciclos para obtener un resultado y es necesario tener cuidado al interpretar la importancia diagnóstica de los valores altos de Ct.

Ionización por Desorción Láser Asistida por Matriz (MALDI-TOF) (Espectrometría de Masas)

- MALDI-TOF requiere actualmente el cultivo de agar (pero no un juego de agares de diagnóstico) previo a un proceso de pruebas automatizadas, aunque se está trabajando para desarrollar técnicas para evitar la necesidad de un pre-cultivo. También se puede utilizar para diferenciar cepas con diferente resolución. Es concebible que en el futuro pueda ser posible rellenar una tabla eficazmente de una cepa veterinaria "look up ", donde puede ser factible unir cepas de bacterias con un comportamiento contagioso o ambiental. Esto podría ser una herramienta útil de vigilancia o podría ayudar con la selección de cepas para la producción de vacunas.(Antes de MALDI-TOF de cepas fue efectivamente las huellas dactilares de ADN basados en la investigación, tales como electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) o aleatorio Fragment Length Polymorphism (RFLP)

El reconocimiento de patrones descritos en la sección de Epidemiología anterior podría ser mejorada por diagnósticos a nivel de una cepa si tenemos la tabla de "look up" (tabla de consulta) para predecir el comportamiento a partir de los datos de la cepa.

El nuevo diagnóstico es la cepa

Para la epidemiología de la mastitis, parece que el comportamiento es más importante que el nombre de una bacteria. Entonces, aunque sabemos que el género Streptococci tiene especies predominantemente contagiosas como agalactiae y especies ambientales tales como uberis dentro de esas especies, también hay variación de cepa y estas cepas pueden comportarse de manera diferente. Por ejemplo, la mastitis causada por cepas humanas de Strep agalactiae (Streptococcus del grupo B [GBS]) es menos probable que se propague de forma contagiosa que las cepas bovinas que son altamente contagiosas. Más significativamente en términos de mastitis bovina para el Reino Unido, una variedad de métodos de tipificación de cepas ha demostrado que algunas cepas de Streptococcus uberis pueden volverse persistentes y comportarse de manera contagiosa y que el comportamiento es epidemiológicamente importante para el rebaño y las necesidades que se deben tener en cuenta plan de control de la mastitis del rebaño.

Análisis de patrones en datos clínicos y subclínicos.

La Definición de la mastitis clínica es autoexplicativa.

Definición de las características de la vaca lactante basadas en el SCC mensual

Cuatro tipos de vaca con el último SCC > 200.000 células por ml

- Nuevo - no es la primera grabación de leche en la lactancia, pero el primer SCC alto
- Primero - tanto un alto SCC y el primer registro de la leche en una lactancia
- Repetir: un alto SCC por lo menos por segunda vez en la lactancia, aunque después de un SCC bajo en el registro anterior de leche.
- Crónico- Un alto SCC en, al menos, tanto en éste como el anterior registro de leche

Dos tipos de vaca con el último SCC > 200.000 células por ml

- Claro_ valores que nunca han sido superiores a 200.000 células por ml
- Curado-varias definiciones de curación (p. Ej., Cuántas SCC <200,000 células por ml antes de clasificarse como curado)
    - o Curación del origen del período seco - posterior a un PRIMERO
    - o Curación del origen de la lactancia: posterior a un NUEVO

Definición de las características de la vaca SECA basadas en el SCC mensual

- BAJO BAJO: Las vacas no infectadas permanecen no infectadas durante el período seco.

(Objetivo > 95% de vacas secas de baja, es decir, la tasa de protección del período seco)

- ALTO BAJO: Las vacas que eliminan una infección durante el período seco.

(Objetivo > 80% de vacas secas de baja, es decir, la tasa de protección del período seco)

- BAJO ALTO: Las vacas que adquieren una infección durante el período seco.
- ALTO ALTO: Las vacas permanecen infectadas durante el período seco.

Características de transmisión contagiosa

- Infecciones Intramamarias de larga duración (IMI).
- BMSCC relativamente alto
- Varios episodios clínicos de un solo cuarto - (casos recurrentes)
- Vaca con datos de alto SCC en DHI en los meses previos a los episodios clínicos
- Existe un fuerte vínculo entre la prevalencia de infecciones existentes y la posibilidad de nuevas infecciones con el mismo patógeno.
- Una correlación positiva entre la prevalencia de infecciones existentes (% de SCC alta crónica vacas) y el riesgo de nuevas infecciones (% nuevas vacas con alta SCC).

Características de transmisión ambiental

- IMI de duración relativamente corta
- BMSCC Potencialmente bajos
- Alta incidencia de casos clínicos sin presencia contemporáneas del IMI de larga duración
- Vaca con datos de SCC en DHI bajos en los meses previos a los episodios clínicos
- Alta incidencia de casos de IMI en el periparto y casos clínicos
- No existe un fuerte vínculo entre la prevalencia de infecciones existentes y la posibilidad de nuevas infecciones con el mismo patógeno.
- Hay una correlación negativa o no correlación entre la prevalencia de infecciones existentes (% de SCC alta crónica vacas) y el riesgo de nuevas infecciones (% nuevas vacas con alta SCC).

Características del origen del periodo de seco

- Con mayor frecuencia patógeno ambiental y patrones de transmisión
- Las vacas no están siendo ordeñadas para facilitar la propagación contagiosa
- Alta incidencia de nuevos IMIs en la lactancia temprana
- > 8% el índice de casos clínicos en el periodo de 30 días después del parto

(1 de cada 12 vacas paridas en el Periodo de análisis)

- > 5% vacas con fracaso en la protección del período seco (Bajo:Alto)

Características del Origen de la lactancia

- Pueden ser patógenos ambientales o contagiosos y patrones de transmisión
- > 17% de índice de casos clínicos en vacas paridas de más de 30 días

(2 de cada 12 vacas paridas en el Periodo de análisis)

- > 5% de nuevos IMI basados en un aumento desde menos de 200,000 células por ml de umbral hasta el umbral superior en el registro de DHI que no sea la primera grabación de DHI dentro de los 30 días posteriores al parto (“Noticias”)

Diagnóstico final del rebaño basado en el análisis de datos anterior

- Período seco Ambiental
- Período seco Contagioso
- Lactancia Ambiental
- Lactancia contagiosa

CONCLUSIÓN

A pesar del hecho de que las nuevas tecnologías han avanzado y avanzarán más, el Análisis Dinámico de Patrones de datos mensuales de SCC proporciona actualmente la mejor herramienta de gestión de salud de ubres en términos de diagnóstico epidemiológico y la dirección de cambios de gestión para mejorar la salud de la ubre.

ENGLISH VERSION

IS INDIVIDUAL SCC STILL THE MAIN INDICATOR OF UDDER HEALTH?

Andrew Biggs BVSc MRCVS

The Vale Veterinary Group. Tiverton Devon EX164LF UK

What are the options for monitoring udder health?

An ideal udder health indicator can be used to either detect abnormalities in udder health as an event at a given point in time or be used to monitor changes in udder health status over time by repeated measurements. To be useful as a surveillance tool to measure changes in udder health over time the indicator needs to be easy and ideally cheap to perform repeatedly with good sensitivity and specificity for the measured indicator which for the purposes of this paper is mastitis or inflammation of the udder.

Milk constituents such as butterfat, protein, lactose and minerals can be affected by factors other than mastitis such as age of cow, season, nutrition and stage of lactation and so are not generally useful indicators of udder health at any given point or for monitoring purposes over time .

Other constituents of milk which are less affected by factors other than mastitis include somatic cell count (SCC), lactate dehydrogenase (LDH), N-acetyl-β-d-glucosaminidase (NAGase), and alkaline phosphatase (AP). However they are not without confounding influences such that month of production, and days in milk significantly influences LDH activity, NAGase activity and SCC in both healthy and clinically mastitic cows. In healthy cows, LDH activity, NAGase activity and SCC starts at a high level immediately after calving and decreases to low levels approximately 30–40 after calving. As expected as udder health indicators all three parameters increase due to clinical mastitis. However NAGase activity has a numerically higher variation in healthy cows than in clinically mastitic cows whilst the relationship between LDH activity and SCC was stronger in milk from clinically mastitic than from healthy cows. LDH activity has a higher sensitivity than NAGase activity (73–95% v. 35–77%) while specificities were in a similar range (92–99%). Further, sensitivities for LDH activity were more robust to changes in the threshold value than those for NAGase activity. These three indicators have potential for automated in-line real-time mastitis detection however the milking systems they are deployed in have a great influence over the practicalities of where they are best suited.

Although regular (most commonly monthly) laboratory SCC determination as part of a DHI package has become the staple of modern dairy herd udder health monitoring there are not insignificant costs in collecting and processing the milk samples from each lactation cow in a herd on a monthly basis. There are of course benefits other than udder health monitoring such as the nutritional impacts on other milk constituents like butterfat and protein, infectious disease monitoring or fertility hormone assays.

Other indicators of udder health can be very simple in terms of direct visual observation of the udder which is perhaps better described as detection rather than diagnosis. Often there is a degree of cross over between the common usage of the terms detection and diagnosis although strictly detection is the identification of an intramammary infection usually by recognising the effects of the resultant inflammatory processes whilst diagnosis takes the detail to identification of a likely causal pathogen.

Epidemiology

Historically differentiation between pathogen behaviour was between Contagious and Environmental with no distinction as to when in the production cycle infections predominantly originated or occurred.

Herd management software such as DAISY from Reading University had a mastitis module in 1994 that the author was very much involved with developing which looked at the days in milk (DIM) that the cases occurred and differentiated between index (first case in a lactation) and repeat cases and recurrent quarters. The DIM was split in to first 7 days, 7 days to 30 days, 31 days to 90 days, over 90 days and dry. It was clear that multi-quartered mastitis was more common in early lactation and environmental pathogens were more likely to be the cause of both early lactation and multi-quartered cases. However following the fingerprinting strain typing research by Bradley & Green showing that early lactation index clinical cases could originate from the dry period it became clear that the origin (either dry period origin or lactation origin) was just as important as the behaviour (contagious or environmental). Contagious behaviour was typified by cow to cow spread and a legacy of persistently infected cows giving the potential for that cow to cow spread to occur whilst environmental behaviour was typified by generally short lived infections and no legacy of persistent infections and so no epidemiologically significant cow to cow spread.

There are exceptions to this when what were traditionally seen as environmental pathogens result in persistent infections which then have the potential to behave in a contagious manner. These hitherto environmental infections such as Strep uberis and even Klebsiella can in some instances result in a legacy because some strains become cow adapted / udder adapted persistent infections giving them the opportunity to act in a contagious way.

Using the epidemiology

Software packages in more recent years Interherd (developed from Daisy) Interherd plus, Herd Companion TotalVet and DairyComp305 all have mastitis modules that use the epidemiology of both clinical and sub-clinical (SCCs) to make diagnostic pattern recognition assumptions to indicate if the mastitis issues in a herd are predominantly dry period or lactation origin and then if the behaviour is predominantly contagious or environmental.

Detection

Detection methods can be applied to clinical mastitis, sub-clinical mastitis or both.

Clinical case detection methods are generally performed cow-side on farm and include:-

Human observation

- Simple visual assessment / observation of milk, udder and cow.

Automated systems

- Automated detection is primarily found in AMS although some are found in conventional milking parlours and include milk conductivity and yield and more commonly in AMS systems milk colour, temperature, total milking time per quarter and dead milking time per quarter (time from cup attachment and milk flow)

Sub-clinical detection methods are most commonly based around evaluation of the somatic cell count (SCC) content of the milk from either a composite comingled sample from all four quarters (Individual Cow SCC [ICSCC]) or at a quarter level. Some can be performed cow-side on farm however the more complex detection systems involve some laboratory analysis and are commonly repeated regularly (most often monthly) at a cow level to determine the dynamic nature of for example SCC.

Examples of sub-clinical detection include:-

Human observation

- California Milk test (CMT) or Rapid Milk Test (RMT) is a very simple cow-side detection system which is very cheap and as its name implies quick to perform. It does have sensitivity limitations and is generally considered to detect SCC down to around 300 to 400,000 cell per ml

Udder Skin Thermography

- Uses graphic software tools, geometric analysis tools (GATs: polygons, rectangles, lines) within the thermographic images to identify increased udder skin temperature. Results are obtained within seconds of the image being taken. The cameras can be placed at entrance or exit gates or mounted on AMS systems.

Laboratory tests

- Individual Cow Somatic Cell Count (ICSCC) were introduced in the UK by National Milk Records (NMR) in 1989/90 and the author trialled their use prior to their launch and was involved in developing paper based analysis parameters including “Apparent New Sub-clinical infections” (ANSI) which we would now term “News”. The number of ANSI’s occurring each month were monitored and recorded by manually annotating the herd monthly individual SCC paper records. This manual system was superseded as software packages such as Interherd, (developed from Daisy from Reading University) Interherd plus, Herd Companion TotalVet and DairyComp305 developed comprehensive analysis modules for herds that routinely record monthly individual cow SCC. These modules allocate cows to one of four groups; New, First, Repeat and Chronic and then use pattern recognition (analysis of the dynamics of how these groups vary in magnitude over time) which gives insights into how mastitis pathogens are behaving in a herd, indicating whether they are predominantly dry or lactation origin and if they are exhibiting predominantly contagious or environmental behaviour.
- QScout - Milk Leucocyte Differential (MLD) is a more recent development which like in human medicine identifies and differentiates leukocytes, (white blood cells), in this case in milk, identifying elevated cell types and cell type ratios that, with the use of algorithms, can indicate infection. This could, with all the caveats and complexities of the impact of pathogen prevalence within a herd, predictive accuracy of the algorithms and risks of quarter level dry cow therapy, be used as a quarter-level diagnostic and could have potential for targeting dry cow therapy at a quarter-level where appropriate.

Diagnosis

Diagnosis methods can also be applied to clinical mastitis, sub-clinical mastitis or both.

Unlike detection of particularly clinical mastitis, where real time cow-side visual assessment / observation is the most common method used, diagnosis is currently rarely performed

cow-side or in real time however it is likely that technological developments in the future may see that change.

The most common diagnostic methods include the following laboratory techniques:-

Bacteriological culture

- Culture is often viewed as the gold standard around the world. Milk samples are inoculated on a variety of diagnostic agar media and incubated to facilitate the growth and subsequent identification of potential causal microbes. Results are in colony forming units (cfu) per ml where one microbe present in milk when inoculated onto agar plates has the potential to form a colony forming unit. The technique has no limit to the diagnostic species that can be identified providing suitable diagnostic culture media and tests are used. There are considerable skills needed which are only acquired and accumulated by experience in order to achieve not only accurate microbe identification but also if the microbe is likely to have originated from the intramammary environment or may be a contaminant and finally if it has potential cow and ultimately herd epidemiological significance.

Polymerase chain reaction (PCR)

- Bacterial DNA is extracted from milk samples and then mixed with "primers" which are templates of the nucleotide sequences from known mastitis causing bacterial species. The primers duplicate (cycling) matching sequences until enough copies are made so that they can be matched to a bacterial species in the library of known bacterial sequences. PCR will copy the sequences of both living and dead bacteria adding complexity to the interpretation of results as an active bacterial infection may not be currently present in the mammary gland.

PCR in contrast to culture methods requires good laboratory practice (clean hygienic processing of samples and following a standard operating procedure) rather than experience to achieve accurate results. The range of microbes detected with PCR mastitis diagnostics (in common with all PCR diagnostics) is limited to the number of primers used. In the UK this is most commonly 12 (11 bacterial species and the Betalactam resistance gene). This has a number of consequences including restricting the diagnostic capability to the 11 pathogen primers in the PCR kit and hampering the ability to identify a sample as contaminated because contaminant microbes will not be included in the 11 microbe diagnostic primers. Results are given as a Cycling Threshold Value (Ct) with higher Ct values indicating the need to perform more cycles to get a result and care is needed in interpreting the diagnostic significance of high Ct values.

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight (MALDI-TOF) (Mass Spectrometry)

- MALDI-TOF currently requires agar culture (but not a suite of diagnostic agars) prior to an automated testing process although work is ongoing to develop techniques to avoid the need for pre-culture. It can also be used to differentiate strains with varying resolution. It is conceivable that in the future it may be possible to effectively populate a veterinary strain "look up" table where it may be feasible to match strains of bacteria to contagious or environmental behaviour. This would be a useful surveillance tool or could help with candidate strain selection for vaccine production. (Prior to MALDI-TOF strain typing was effectively research based DNA finger printing such as Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) or Random Fragment Length Polymorphism (RFLP))

The pattern recognition described in the Epidemiology section above could be enhanced by diagnostics at a strain level providing we have the "look up" table to predict behaviour from strain data.

The new diagnostic is strain

For mastitis epidemiology it seems that behaviour is more important than the name of a bacterium. So although we know that the genus Streptococci has both predominantly contagious species such as agalactiae and environmental species such as uberis within those species there is also strain variation and these strains may behave differently. For example mastitis caused by human strains of Strep agalactiae (Group B Streptococci [GBS]) is less likely to spread in a contagious manner than bovine strains which are highly contagious. More significantly in terms of bovine mastitis for the UK a variety of strain typing methods has shown that some strains of Streptococcus uberis can become persistent and behave in a contagious manner and that behaviour is epidemiologically important for the herd and needs taking into account when developing a herd mastitis control plan.

Pattern analysis in clinical and sub-clinical data.

Definition of clinical mastitis is self-explanatory.

Definition of LACTATING cow categories based on monthly SCC

Four types of cow with latest SCC > 200,000 cells per ml

- New - Not the first milk recording in the lactation but the first high SCC
- First - Both a high SCC AND the first milk recording in a lactation
- Repeat - A high SCC for at least the second time in the lactation although following a low SCC at the previous milk recording.
- Chronic - A high SCC at at least both this and the previous milk recording

Two types of cow with latest SCC < 200,000 cells per ml

- Clear - Never been over 200,000 cells per ml
- Cured - Various definitions of cure (eg How many SCC < 200,000 cells per ml before classified as a cure)
    - o Dry period origin cure – subsequent to a FIRST
    - o Lactation origin cure – subsequent to a NEW

Definition of DRY cow categories based on monthly SCC

- LOW LOW: Uninfected cows remaining uninfected during the dry period.
- (Target > 95% of cows drying off low ie dry period protection rate)
- HIGH LOW: Cows eliminating an infection during the dry period.
- (Target > 80% of cows drying off high ie dry period cure rate)
- LOW HIGH: Cows acquiring an infection during the dry period.
- HIGH HIGH: Cows remaining infected through the dry period.

Contagious transmission characteristics

- Long duration of intramammary infections (IMI's)

- Relatively high BMSCC
- Multiple clinical episodes from a single quarter – (recurrent cases)
- High cow SCC in DHI data in months before clinical episodes
- Strong link between the prevalent existing infections and likelihood of new infections with the same pathogen.
- Positive correlation between the prevalence of existing infections (% chronic high SCC cows) and risk of new infections (% new high SCC cows).

Environmental transmission characteristics

- Relatively short duration of IMI's
- Potentially Low BMSCC
- High incidence of clinical cases without presence of contemporaneous long duration IMI's
- Low cow SCC in DHI data in months before clinical episodes
- High incidence of periparturent IMI's and clinical cases
- No link between the prevalent existing infections and likelihood of new infections with the same pathogen.
- Negative or no correlation between the prevalence of existing infections (% chronic high SCC cows) and risk of new infections (% new high SCC cows

Dry Period Origin characteristics

- Most commonly environmental pathogen and transmission patterns
- Cows are not being milked to facilitate contagious spread
- High incidence of new IMIs in early lactation
- > 8% index clinical cases within 30 days of calving
- (1 in 12 cows calving in analysis period)
- > 5% cows with failure of dry period protection (Low:High

Lactation Origin characteristics

Can be either environmental or contagious pathogens and transmission patterns

> 17% index clinical cases in cows more than 30 days calved

(2 in 12 cows calving in analysis period)

> 5% new IMI's based on increase from below 200,000 cells per ml threshold to above threshold at DHI recording other than first DHI recording within 30 days of calving ("News")

Final Herd Diagnosis based on above data analysis

- Dry period Environmental
- Dry period Contagious
- Lactation Environmental
- Lactation Contagious

CONCLUSION

Despite the fact that new technologies have advanced and will advance further Dynamic Pattern Analysis of routine monthly SCC data currently gives the best udder health management tool in terms of epidemiological diagnostics and directing management changes to improve udder health.

GESTIÓN DE LA UROLITIASIS OBSTRUCTIVA EN EL TORO DE CRÍA

Richard Hopper, DVM, DACT

Facultad de Medicina Veterinaria, Mississippi State University

INTRODUCCIÓN

La Urolitiasis con la consiguiente obstrucción uretral es un problema importante en todos los rumiantes masculinos y está asociada con morbilidad y mortalidad significativas. De hecho la obstrucción uretral ha sido citada como la indicación más común para la cirugía del tracto urinario en los rumiantes [1]. Hay varias opciones de gestión, pero la duración de la obstrucción, las complicaciones de la obstrucción (ruptura de la vejiga, ruptura uretral), la economía, el tipo o categoría del animal, y el uso previsto en última instancia dictará el enfoque que se decida. El éxito a largo plazo, una vez que se ha resuelto la obstrucción, depende de la identificación del tipo de cálculos y de la iniciación de cambios dietéticos y de gestión que impidan la formación futura de cálculos [2].

En el caso del animal básico, un novillo o un toro de valor marginal, el sacrificio inmediato es una opción de recuperación económica. Realizar una uretrostomía perineal (con o sin amputación del pene) permite la posterior comercialización en el momento en que el animal está terminado o, al menos, en mejores condiciones para el sacrificio y/o cuando los residuos de los antibióticos han desaparecido. El tema de nuestro debate se limitará a aquellos procedimientos que tienen el potencial de permitir una recuperación que restaura la habilidad para una futura reproducción.

Patofisiología

Un breve examen de las causas subyacentes, incluyendo los factores de riesgo es útil no sólo en la gestión para prevenir la aparición de esta afección, sino también durante y después de su tratamiento. Se cree que los cálculos aparecen siguiendo simplemente una formación nido que a su vez es el resultado de la coalescencia y precipitación de mucoproteinas y cristales en la orina [2], pero es más complicado que eso. Existen varios factores que influyen en su desarrollo. Los cristaloides, que son minerales ionizados solubles, cuando se encuentran en altas concentraciones urinarias se agregan para formar cristales insolubles. Sin embargo, los concentrados urinarios altos (orina sobresaturada) es normalmente la situación incluso en la orina normal, por lo que hay otros componentes de la orina (mucopolisacáridos, iones y ácidos orgánicos) que inhiben la formación de cristales. La dieta, los factores medioambientales y la gestión juegan un papel en este equilibrio precario; pero el principal factor contribuyente, independientemente del tipo de cálculos, es la deshidratación [3].

Tipos de cálculos

Estruvita

Estos son el resultado de una dieta alta en grano en particular (posiblemente) alimentos granulados [3]. Las dietas de cereales son ricas en fósforo y la salivación disminuye en los animales que consumen gránulos (esta es la cantidad de fósforo que debe eliminarse a través de la orina). Estos se presentan como una sola piedra o arena.

Sílice

Normalmente se encuentran en el oeste de América del Norte. El pastoreo de ganado que pasta hierbas con alto contenido en sílice. Los niveles dietéticos de cobre y zinc (deficiencia) han sido mencionados como factores contribuyentes.

El calcio

Principalmente en pequeños rumiantes que pastan pastos frondosos a base de trébol. Esta dieta es rica en calcio y oxalato. Los oxalatos se unen al calcio y disminuyen su capacidad de absorción [3].

Gestión quirúrgica

Cistotomía Tubular

La cistostomía tubular, junto con una cistotomía o sin ella, proporcionará una desviación de la orina que permite el alivio del espasmo y la hinchazón de la uretra; ambos con el tiempo pueden facilitar el paso de piedras [4]. Además, ofrece una ruta directa para la administración de agentes quimiolíticos dentro de la vejiga urinaria [5], si es que eso es parte de tu plan de tratamiento. Creo que esta es la mejor opción para un toro para el cual se desea la restauración para su uso futuro como toro de cría y definitivamente es el procedimiento de elección cuando se produce la ruptura de la vejiga urinaria o la uretra.

Esta cirugía se puede realizar de pie a través de una incisión de laparotomía, aunque el acceso óptimo a la vejiga urinaria se obtiene a través de una celiotomía ventral. La vejiga urinaria es visualizada y exteriorizada. Se hace avanzar un catéter de Foley a través de la piel con una incisión apical a 8-10 cm del sitio de abordaje quirúrgico (abordaje de flanco). Si se utiliza un abordaje ventral de la vejiga, realice una incisión opuesta a la incisión cutánea inicial y al menos a 3 cm del prepucio. Independientemente del abordaje de la vejiga, se coloca el catéter de Foley en la vejiga urinaria, a través de una incisión a través de craneoventral cerca del ápice; esto puede hacerse a través de una sutura de bolsa de tabaco precolocada [2]. Se distiende el globo con solución salina y luego se coloca una sutura de bolsa de tabaco si no lo hiciste en el paso anterior. Esto debe colocarse en la capa seromuscular de la vejiga urinaria alrededor del catéter con cuidado de no penetrar en el lumen y, por supuesto, es importante que la sutura no engarce el catéter. A continuación, bajo una cantidad razonable de tensión colocada en el catéter de Foley, la vejiga se acerca a la pared abdominal. Tenga en cuenta que si son incapaces de hacerlo, lo cual puede ser el caso cuando se utiliza el abordaje de flanco (lateral) y con la fragilidad del tejido de la vejiga, es mejor permitir que el tubo “flote libremente” en el abdomen. Cuando se utiliza un enfoque ventral, esto no suele ser un problema y la vejiga puede ser suturada a la funda del recto interno [4] (Cistopexia). Se fija en el extremo del catéter una válvula unidireccional. El tubo debe dejarse en su lugar por un mínimo de 7 días o más hasta que el flujo de orina haya pasado a través de la uretra. El catéter se puede ocluir diariamente durante un período de tiempo mientras se observa la micción normograda y, por lo tanto, el signo del paso de los cálculos. Por lo general, dejamos el tubo en su lugar durante 2-3 días

después de la micción normal para asegurar que no se haya producido la reobstrucción.

La cateterización de la uretra distalmente en la punta del pene e infusión retrógrada de una mezcla que contiene aproximadamente lidocaína (5 ml), dexametasona (5 ml) y solución salina de 10-20 ml proporciona el beneficio potencial de desalojar el cálculo y disminuir la inflamación de la uretra, así como el dolor por espasmo uretral.

El autor también señaló que la marsupialización de la vejiga, que a menudo se utiliza para la urolitiasis obstructiva en pequeños rumiantes, no se ha demostrado que esté asociada con resultados favorables en los bovinos [6].

Urestrostomía/uretrotomía isquial

No debe confundirse con una uretrostomía perineal que se utiliza principalmente como un procedimiento de rescate, la uretrostomía isquial se realiza a través de un abordaje que está a sólo 5 cm por debajo del recto dentro del arco isquiático (de pie con anestesia epidural). La incisión debe tener 10 cm de longitud, avanzar hacia y a través de la capa densa de la fascia que cubre los músculos retractores del pene. Después disecciona entre los músculos retractores del pene hacia el músculo bulboesponjoso [7]. Corte la uretra a través del músculo bulboesponjoso o ligeramente distal a su unión [2]. Haga con cuidado su incisión en la uretra en la línea media, pero independientemente del cuidado que tenga, prepárese para una buena cantidad de hemorragia del cuerpo esponjoso.

Una vez que haya abierto la uretra, puede pasar un catéter a la vejiga. Se puede mantener un catéter de Foley con balón para evacuar la orina de la vejiga. La uretra distal también se puede cateterizar desde ese sitio para infusión (tenga en cuenta el uso de la misma mezcla de lavado previamente descrita para la infusión retrógrada). Debido a que la uretra tiene un diámetro mayor en este punto, hay menos preocupación con los resultados de la formación de estenosis.

Tratamiento Complementario

La atención médica anterior o en conjunto con uno de los procedimientos antes mencionados incluye un intento de relajar los músculos retractores del pene con el objetivo de enderezar la flexura sigmoidea. Esto puede facilitar el paso de la piedra y puede realizarse mediante la utilización de un bloqueo del nervio pudendo (examinado en el manuscrito Urovagina) o la administración de un tranquilizante fenotiazina. En los casos de obstrucción uretral aguda, la relajación de los músculos retractores del pene puede permitir la extrusión de las litiasis mediante el enderezamiento de la flexura sigmoidea. Además de la relajación de los músculos retractores del pene, los tranquilizantes con fenotiazina pueden disminuir el espasmo uretral [8].

BIBLIOGRAFÍA

1. Walker DF, Vaughn JT. Surgery of the urinary tract. In Walker & Vaughn (editors): *Bovine and Equine Urogenital Surgery*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1980, P 59
2. Hooper RN, Taylor TS. Urinary surgery. Vet Clin of North Am: Food Anim 1995;11:95-121.
3. Byers, SR. Urolithiasis. In: Smith (editor) *Large Animal Internal Medicine*, Fifth Edition. St. Louis, MO. Mosby-Elsevier. 2015 P 897-903.
4. Simpson KM, Streeter RN. Bovine urolithiasis. In: Hopper (editor). Bovine Reproduction. Philadelphia. Wiley. 2013. P
5. Streeter RN, Washburn KE, Mccauley CT. Percutaneous tube cystostomy and vesicular irrigation for treatment of obstructive urolithiasis in a goat. J Am Vet Med Assoc 2002;221:546-549.
6. Gasthuys F, Steenhaut M, De Moor A, Sercu K. Surgical treatment of urethral obstruction due to urolithiasis in male cattle: a review of 85 cases. Vet Rec 1993;133:522-526.
7. Larson BL. Identifying, treating, and preventing bovine urolithiasis. Vet Med 1996;91:366-377.
8. Scheel EH, Paton IM. Urinary calculi in feedlot cattle report on treatment with aminopromazine. J Am Vet Med Assoc 1960;137:665-667.

ENGLISH VERSION

Management of obstructive urolithiasis in the breeding bull

Richard Hopper, DVM, DACT

College of Veterinary Medicine, Mississippi State University

INTRODUCTION

Urolithiasis with resultant urethral obstruction is a significant problem in all male ruminants and is associated with significant morbidity and mortality. In fact urethral obstruction has been cited as the most common indication for urinary tract surgery in ruminants [1]. There are several management options, but duration of the obstruction, complications from obstruction (bladder rupture, urethral rupture), economics, type or category of animal, and intended use ultimately will dictate the approach decided upon. Long term success, once the obstruction has been resolved, is dependent on identifying the type of calculi and initiating dietary and management changes that prevent future calculi formation [2].

In the case of the commodity animal, a steer or a bull of marginal value, immediate slaughter for salvage is an option. Performing a perineal urethrostomy (with or without penile amputation) allows for later marketing at such a time when the animal is finished or at least better condition for slaughter and/or when antibiotic residues have cleared. The subject of our discussion will be limited to those procedures that have the potential of allowing a recovery that restores the ability for future breeding.

Pathophysiology

A brief review of the underlying causes, including risk factors is useful not only in management to prevent the occurrence of this condition, but also during and following your treatment. Calculi were believed to result simply following nidus formation which in turn resulted from the coalescence and precipitation of mucoproteins and crystals in the urine [2], but it is more complicated than that. There are multiple factors that impact their development. Crystalloids, which are soluble ionized minerals, when in high urinary concentrations aggregate to form insoluble crystals. However, high urinary concentrates (supersaturated urine) is typically the situation even in normal urine, so there are other urine components (mucopolysaccharides, ions and organic acids) that inhibit crystal formation. Diet, environmental factors and management all play a role in this precarious balance; but the prime contributing factor regardless of calculi type is dehydration [3].

Types of calculi

Struvite

These result from high grain diets particularly (possibly) pelleted feeds [3]. Grain diets are high in phosphorus and salivation is decreased in animals consuming pellets (this the amount of phosphorus which must be eliminated through urine). These occur as a single stone or sand.

Silica

Typically found in western North America. Cattle grazing grasses high in silica. Dietary copper and zinc (deficiency) levels have been implicated as contributory factors.

Calcium

Primarily in small ruminants grazing lush clover based pastures. This diet is high in calcium and oxalates. The oxalates bind to calcium and decreases its absorbability [3].

Surgical management

Tube cystotomy

Tube cystostomy, in conjunction with or without a cystotomy, will provide a diversion of the urine allowing for relief of urethral spasm and swelling; both of which, with time can facilitate stone passage [4]. Additionally, it offers a direct route for administering chemolytic agents into the urinary bladder [5], if that is a part of your treatment plan. I believe this is the best option for a bull for which restoration for future use as a breeding sire is desired and it is definitely the procedure of choice when urinary bladder or urethral rupture has occurred.

This surgery can be performed standing through a laparotomy incision, although optimal access to the urinary bladder is obtained through a ventral celiotomy. The urinary bladder is visualized and exteriorized. A Foley catheter is advanced through the skin via a stab incision 8-10 cm from the surgical approach site (Flank approach). If a ventral approach to the bladder is used, make the stab incision opposite the side of the initial skin incision and at least 3 cm from the prepuce. Regardless of approach to the bladder, the Foley catheter is then placed into the urinary bladder via a stab incision through the cranioventral aspect close to the apex; this can be done through a preplaced purse-string suture [2]. The balloon is distended with saline and then place a purse-string suture if you did not in previous step. This should be placed into the seromuscular layer of the urinary bladder around the catheter with care not to penetrate the lumen and it is of course important that the suture not crimp the catheter. Then under a reasonable amount of tension placed on the Foley catheter, the bladder is pulled close against the abdominal wall. Note if you are unable to do this, which can be the case when utilizing the flank (lateral) approach and with tissue fragility of the bladder, it is better to allow the tube to "free-float" in the abdomen. When a ventral approach is utilized, this is typically not a problem and the bladder can be sutured to the internal rectus sheath [4] (Cystopexy). A one-way valve is affixed to the end of the catheter. The tube should be left in place for a minimum of 7 days or longer until urine flow via the urethra has occurred. The catheter can be occluded daily for a period of time while observation for normograde voiding and thus sign of calculi passage. We typically leave the tube in place for 2-3 days following normal urination to insure that reobstruction has not occurred.

Catheterization of the urethra distally at the tip of the penis and retrograde infusion of a mixture containing approximately; lidocaine (5ml), dexamethasone (5ml) and 10-20ml saline provides the potential benefit of dislodging the stone and decreasing urethral inflammation as well as pain from urethral spasm.

The author would also note that bladder marsupialization, which is often employed for obstructive urolithiasis in small ruminants, has not been shown to be associated with favorable outcomes in the bovine [6].

Ischial urethrostomy/urethrotomy

Not to be confused with a perineal urethrostomy which is primarily used as a salvage procedure, the ischial urethrostomy is performed with via an approach that is only 5 cm below the rectum within the ischial arch (Standing with epidural anesthesia). The incision should be 10cm in length, proceeding to and through the dense layer of fascia overlying the retractor penis muscles. Then bluntly dissect between the retractor penis muscles to the bulbospongiosus muscle [7]. Incise the urethra through the bulbospongiosus muscle or slightly distal to its attachment [2]. Carefully make your incision into the urethra on midline, but regardless of your care be prepared for a fair amount of hemorrhage from the corpus spongiosum.

Once you have opened the urethra you can then pass a catheter into the bladder. A Foley catheter with balloon can be maintained there to evacuate urine from the bladder. The distal urethra can also be catheterized from that site for infusion (note using the same flush mixture previously described for retrograde infusion). Because the urethra has a greater diameter at this point, there is less concern with the results of stricture formation.

Ancillary treatment

Medical care before or in conjunction with one of the aforementioned procedures includes an attempt to relax the retractor penis muscles with the goal of straightening the sigmoid flexure. This may facilitate passage of the stone and can be accomplished by the use of a Pudendal Nerve Block (reviewed in the Urovagina manuscript) or the administration of a phenothiazine tranquilizer. In cases of acute urethral obstruction, relaxation of the retractor penis muscles may allow extrusion of calculi by straightening the sigmoid flexure. In addition to relaxation of the retractor penis muscles, phenothiazine tranquilizers may decrease urethral spasm [8].

REFERENCES

1. Walker DF, Vaughn JT. Surgery of the urinary tract. In Walker & Vaughn (editors): *Bovine and Equine Urogenital Surgery*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1980, P 59
2. Hooper RN, Taylor TS. Urinary surgery. Vet Clin of North Am: Food Anim 1995;11:95-121.
3. Byers, SR. Urolithiasis. In: Smith (editor) *Large Animal Internal Medicine*, Fifth Edition. St. Louis, MO. Mosby-Elsevier. 2015 P 897-903.
4. Simpson KM, Streeter RN. Bovine urolithiasis. In: Hopper (editor). Bovine Reproduction. Philadelphia. Wiley. 2013. P
5. Streeter RN, Washburn KE, Mccauley CT. Percutaneous tube cystostomy and vesicular irrigation for treatment of obstructive urolithiasis in a goat. J Am Vet Med Assoc 2002;221:546-549.
6. Gasthuys F, Steenhaut M, De Moor A, Sercu K. Surgical treatment of urethral obstruction due to urolithiasis in male cattle: a review of 85 cases. Vet Rec 1993;133:522-526.
7. Larson BL. Identifying, treating, and preventing bovine urolithiasis. Vet Med 1996;91:366-377.
8. Scheel EH, Paton IM. Urinary calculi in feedlot cattle report on treatment with aminopromazine. J Am Vet Med Assoc 1960;137:665-667.

LOS MÉTODOS NO TRADICIONALES PARA DETERMINAR LA FERTILIDAD DEL TORO

Pohler, K.G., G. A. Franco, S. T. Reese, Z.J. Bartenslager, F. N. Schrick, J. D. Rhinehart, F. G. Dantas, S. L. Speckhart, T. B. Ault, R. V. Oliveira, T. S. Maia, A. P. O. Santos

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX
Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN

PUNTOS CLAVE

- La variación en la tasa de gestación en relación a la IATF causada por la fertilidad del toro es sustancial y no se conocen las causas.
- Los innumerables factores que pueden afectar la fertilidad del toro y la diversidad de los informes de mediciones de fecundidad aumentan la incertidumbre a la hora de predecir la fertilidad del toro
- Existe un efecto del toro en la pérdida de las gestaciones y los genes PAG son un marcador potencial para identificar a los toros con altas o bajas tasas de pérdida de gestación.
- La expresión del estro también afecta el rendimiento del toro. La identificación de toros que funcionan bien independientemente del estro podría ayudar a mejorar la eficiencia reproductora.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de más de un siglo, los científicos han intentado desarrollar técnicas para predecir la fertilidad potencial de una muestra de semen. En la mayoría de especies de animales, el macho es responsable de varias gestaciones al año y hasta de cientos de miles de gestaciones si se le utiliza para la inseminación artificial (IA). El uso de toros con una fertilidad baja o infértiles puede tener efectos devastadores en lo que respecta a la eficiencia reproductora del rebaño. Aunque los estudios de fertilidad se están expandiendo rápidamente según se mejoran las técnicas moleculares, genómicas e informáticas, nuestro entendimiento de la fertilidad masculina está todavía lejos de ser completa.

Una prueba ideal de la fertilidad masculina debe ser viable económicamente, ofrecer resultados consistentes y tener la capacidad de medir varias variables ya que los espermatozoides deben cumplir numerosos requisitos para el éxito de la fertilización. Una prueba perfecta debe ser capaz de evaluar no sólo la capacidad de los espermatozoides de llegar al sitio de la fertilización, sino también la capacidad para fecundar los ovocitos, y para establecer y mantener un embarazo exitoso (Braundmeier and Miller, 2001).

Características del esperma

Durante mucho tiempo, las alteraciones espermáticas se han asociado con la infertilidad masculina y la esterilidad en las especies estudiadas (Chenoweth, 2005). Las anomalías asociadas con los espermatozoides tienen un significativo impacto económico en la producción de terneros en una explotación. Hay dos categorías son prevalentes en relación a las alteraciones espermáticas, defectos graves y menores. Las anomalías que importantes, que ocurren con cierta regularidad, que están asociadas a la infertilidad masculina, y pueden ser heredables, se clasifican como defectos graves (Chenoweth, 2005). Estos defectos se clasifican como defectos del acrosoma, de la cabeza de los espermatozoides, de la pieza media del espermatozoide, y de la cola de los espermatozoides (Chenoweth, 2005).

Se pueden generar las anomalías en el semen de varias maneras diferentes. En esta sección, hablaremos de los graves y de algunos menores en dos zonas diferentes del esperma: cabeza y cola.

Defectos de cabeza de esperma

Los defectos del acrosoma, específicamente los acrosomas agrupados, tienen una relación genética con el toro frisón según Chenoweth (2005). Desde que se estableció el vínculo genético en los toros frisones, otras razas han notado una situación similar, tales como los Angus, Horned Hereford, Charolais, Maine Anjou, Salers y Simmental (Barth and Oko, 1989; Chenoweth, 2005). Aunque la genética juega un papel en los knobbed acrosomas, también se relaciona a menudo el medio ambiente en lo que se refiere a la regulación de la temperatura en los testículos, enfermedades, deficiencias nutricionales y otros aspectos (Jelinski *et al.*, 2002).

Es común encontrar pequeñas cantidades de cabezas separadas en las muestras de semen de toro (Barth y Oko, 1989). Los toros Hereford, junto con ciertas razas lecheras, tienen un mayor riesgo genético de que se separen las cabezas (Chenoweth, 2005). Según observó Chenoweth, 2005, las cabezas separadas se pueden observar en el lado proximal de la pieza media; sin embargo, a menudo la presencia de una gota puede producir la falsa ilusión de una cabeza de esperma micro-cefálica. La hipoplasia de los testículos está asociada con un aumento en el número de cabezas desprendidas (Barth y Oko, 1989). También se piensa que los toros con inflamación, calentamiento de los testículos y que sufren periodos de inactividad prolongados, pueden experimentar un aumento de la cantidad de cabezas desprendidas (Barth y Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002).

Defectos de cola

El defecto Dag, nombrado así por el toro de la raza Jersey en el que se detectó el defecto por primera vez, tiene una fuerte base hereditaria con una correlación genética del 0,50% (Chenoweth, 2005; Roberts *et al.*, 2010). Cabe señalar que el medio ambiente desempeñará un papel en este trastorno del testículo o del epidídimo (Barth y Oko, 1989; Chenoweth, 2005).

El defecto de pseudo gotitas, que no debe confundirse con las gotitas iniciales ya que son más densos y de forma irregular, es raro (Barth y Oko, 1989; Chenoweth, 2005). Se sugiere una base hereditaria ya que cinco toros frisonas estuvieron afectados por el defecto (Chenoweth, 2005). Se informa que, con acumulaciones mitocondriales agregadas, este defecto puede estar asociada con la fiebre efímera bovina así como con el espermatoxicidad gosipol (Chenoweth, 2005).

A menudo, los proximal droplets están asociados con la inmadurez de toros jóvenes (Barth y Oko, 1989). Si se ven

muchos casos, especialmente en toros mayores, podría haber un vínculo con el proceso de desarrollo (Jelinski *et al.*, 2002). Ahora, se piensa que los proximal droplets son relevantes en lo relacionado con su heredabilidad, con una correlación genética del 0,37 (Roberts *et al.*, 2010).

El reflejo distal de la pieza media (colas torcidas), aunque se clasifica como un defecto menor, es uno de las anomalías de cola más comunes en los toros (Barth y Oko, 1989). Se cree que las células de esperma son afectados por este defecto cuando están expuestos a las secreciones anormales en el epidídimo (Barth y Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002). Esta secreción puede verse influida por varios factores, principalmente factores de estrés inducido (Barth y Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002).

¿Cómo medir la fertilidad?

La fertilidad se define generalmente como la capacidad para producir una descendencia viable. Entre el apareamiento y el nacimiento, hay varios puntos que se utilizan para evaluar el éxito de la fertilidad en el ganado, incluida la tasa de fertilización, la tasa de no retorno al estro, la tasa de concepción, la tasa de gestación y el parto, que se correlacionan con diferentes aspectos del ciclo reproductivo. Aunque cada medición proporciona información útil, el énfasis de un sistema ganadero debe colocarse sobre el producto final, representado por la tasa de partos.

La tasa de fertilización puede evaluarse *in vitro* por la presencia de la primera división celular después de las 48h de la inseminación o *in vivo* por lavado del útero 7 días después de la inseminación para recuperar embriones u ovocitos no fertilizados (Sreenan and Diskin, 1986). Sin embargo, la técnica del lavado no garantiza que todos los embriones se recuperarán, limitando el uso de este índice como una estimación real de la fertilización. Esta medición sobreestima la tasa de concepción en aproximadamente un 10-15%, debido principalmente a los animales en anestro, pérdida temprana de la gestación o el fallo en la detección de celo (Hafez and Hafez, 2013).

La tasa de concepción representa el porcentaje de animales gestantes sobre el número de animales inseminados tras la detección del estro, similar a la tasa de fertilización. Sin embargo, debido a las limitaciones del diagnóstico temprano de la gestación, la tasa de concepción se refiere generalmente a animales gestantes en algún momento después de la cría del apareamiento (p. ej. 30 a 45 días) y, por lo tanto, representa no sólo la tasa de fertilización, sino también la pérdida temprana de la gestación. La tasa de gestaciones es la medida de fertilidad del rebaño más común. Representa el número de animales que concibieron en un período de tiempo definido en relación al número de animales aptos para la reproducción durante el periodo de tiempo definido. Este período de tiempo puede ser los 21 días del intervalo del estro, un solo día de la IA a tiempo fijo, o un intervalo de la temporada de cría (p. ej. 90 días, 120 días)(DeJarnette and Amann, 2010). La identificación de animales gestantes se consigue a menudo mediante la palpación rectal, una ecografía o pruebas de embarazo basados en la sangre.

Desde un punto de vista productivo y económico, la medida más apropiada de la fecundidad es la tasa de partos. Se define como la cantidad de terneros nacidos en relación al número total de vacas inseminadas o expuestos a un toro; este índice representa tanto la tasa de fertilización y todas las subsiguientes pérdidas de gestación. Esta medida, sin embargo, ofrece pocas ventajas a un productor porque solamente se puede obtener 9 meses después de la temporada de apareamiento.

En el ganado, la mayoría de los rasgos de la fertilidad en los machos sólo se han estudiado en relación a la fertilización y el desarrollo embrionario temprano, representado por la tasa de concepciones o la tasa de gestaciones. Históricamente, la pérdida de una gestación después de este tiempo, se asocia generalmente con la infertilidad de la hembra. No obstante, estudios recientes han demostrado la genética paterna contribuyen significativamente a la mortalidad fetal/ embrionaria en el ganado vacuno (López-Gatius *et al.*, 2002; Starbuck *et al.*, 2004; Franco *et al.*, en imprenta) y esto puede afectar drásticamente a la tasa de partos y se debe tener en cuenta cuando se mide el efecto del macho sobre la fertilidad del rebaño.

Cómo predecir la fertilidad masculina?

La relación entre la calidad del semen *in vitro* y la fertilidad en el campo ha sido objeto de considerable estudio (Amann and Hammerstedt, 1993; Farrell *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1999; Larsson and Rodrıguez-Martınez, 2000; Rodríguez-Martínez, 2003). Lamentablemente, la mayoría de los métodos actuales no pueden describir exactamente el nivel de fertilidad que el semen analizado tendrá *in vivo*. En su lugar, estas estimaciones son se pueden establecer mediante pruebas de fertilidad de campo después de que varios cientos o miles de hembras han sido inseminadas. Esto puede costarle tiempo y dinero tanto a las empresas y a los productores de semen. Por esta razón, los análisis de semen fresco y procesado se han vuelto más detallados, pasando de sólo evaluar las características de los espermatozoides (por ejemplo la motilidad, morfología, integridad estructural) a determinar el potencial de fertilización de la muestra a través de los marcadores genéticos y moleculares y buscando la predicción de valores pronósticos (Rodríguez-Martínez, 2003).

Hay varios factores que afectan a la calidad del semen y que aumentan la dificultad de estimar la fecundidad; incluyendo la variabilidad entre los eyaculados, el procesamiento de los lotes, los factores ambientales y el manejo del semen después de salir del toro semental. La salud, el estado reproductivo y las prácticas de gestión de los toros y del rebaño de vacas durante la temporada de cría también contribuyen significativamente a la variabilidad de las tasas de fecundidad (Figura 1). Un comentario presentado por (Utt, 2016) señaló que a fin de maximizar la exactitud y la precisión de la predicción de la fertilidad, se deben tener en cuenta las fuentes de variación relevantes. La variabilidad sin explicación y el número de observaciones crean un cierto grado de incertidumbre, o "ruido", que compromete a la precisión de la predicción de la fertilidad del toro. Si las diferencias en las predicciones de fertilidad entre toros no son mayores que el "ruido", la posibilidad de predecir con exactitud la diferencia de fecundidad entre los toros es mínima.

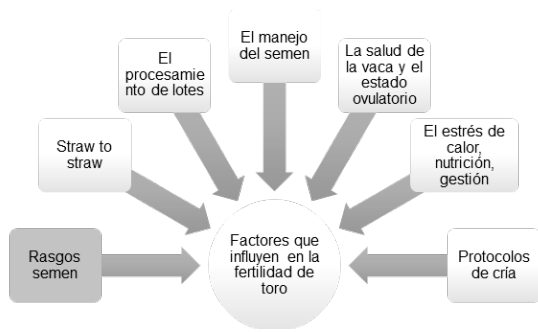


Figura 1. Factores que influyen en la predicción de la fertilidad del toro

Las variables que pueden afectar a la predicción de la fertilidad

del toro incluyen la variabilidad del semen en sí, incluyendo la variabilidad inherente de la medida (rasgos del semen), entre pajuelas, el procesamiento de los lotes y la manipulación del semen después de que sale del toro, así como las variables relacionadas con la gestión y los órganos femeninos. Adaptado de Utt (2016).

Cómo mejorar la fertilidad del toro?

La variación de la tasa de gestación en relación a la IA a causa de la fertilidad del toro es sustancial. El conocer los factores que afectan al establecimiento y mantenimiento de la gestación es fundamental para desarrollar estrategias de gestión con vistas a aumentar la fertilidad. La reproductividad mejora gradualmente según aumenta el recuento de esperma por eyaculado hasta que se alcanza un límite, por encima del cual los incrementos adicionales en el número de espermatozoides o en su calidad no mejora la fertilidad (DeJarnette and Amann, 2010). La base fisiológica de esta respuesta se basa en el concepto de que se tienen que hacer llegar un número determinado de espermatozoides competentes al oviducto para fertilizar el óvulo con éxito. Por lo tanto, las mejoras en la fertilidad se producirán con esperma adicional hasta que se alcanza este umbral. Sin embargo, una mayor dosis de inseminación más allá de este punto no mejora la fertilidad, ya que la población óptima necesaria para el éxito de la fecundación ya está presente en el oviducto (Salisbury and Vandemark, 1961). Este concepto se basa en la presencia de rasgos *compensables* o *no-compensables* en el espermatozoide. Los rasgos compensables son aquellas que no afectan a la fertilidad si se utilizan un gran número de espermatozoides durante la inseminación e incluyen la motilidad, morfología, capacidad para someterse a la capacitación, e iniciar una reacción acrosómica. En cambio, los rasgos no-compensables son aquellos que no pueden superarse mediante el incremento del número de espermatozoides en la dosis de la inseminación (Saacke *et al.*, 2000; Braundmeier and Miller, 2001). Estos defectos afectan a la función de los espermatozoides durante las etapas posteriores de la fertilización y el desarrollo embrionario, como las vacuolas nucleares (Saacke *et al.*, 1988), deficiencias morfológicas que no reprimen el movimiento (DeJarnette *et al.*, 1992), y la estructura defectuosa de la cromatina (Ballachey *et al.*, 1988). Comprender la forma y función de los espermatozoides y las consecuencias de determinados defectos es imprescindible con vistas a desarrollar métodos para identificar la alta fecundidad de los toros y mejorar la eficiencia reproductora.

Rasgos mensurables de éxito en los toros

Los últimos hallazgos podrían resultar útiles para evaluar la fertilidad de los toros de carne de vacuno. Se evaluaron las proximal droplets en toros de carne durante un estudio de 4 años con 755 toros (Schrick *et al.*, no publicado). El estudio se centró en toros entre 12 - 16 meses de edad junto con otras especificaciones establecidas por las estaciones de ensayo. El crecimiento de la circunferencia escrotal fue analizada para buscar caracteres morfológicos de fracaso y fallos de proximal droplets, encontrándose que los toros con una mayor tasa de crecimiento tenían mayores posibilidades de fracaso en una prueba de reproducción (Schrick *et al.* inédito; Figura 2). En apoyo, Pratt *et al.* (1991) dice que el rápido crecimiento de la circunferencia escrotal en toros con menor circunferencia escrotal reduce la fertilidad. Creemos que los toros con una menor circunferencia escrotal no pueden mantener las exigencias fisiológicas mientras continúan madurando. El énfasis en la selección de toros con mayor circunferencia escrotal sigue siendo la misma que desde hace 27 años (Pratt *et al.*, 1991).

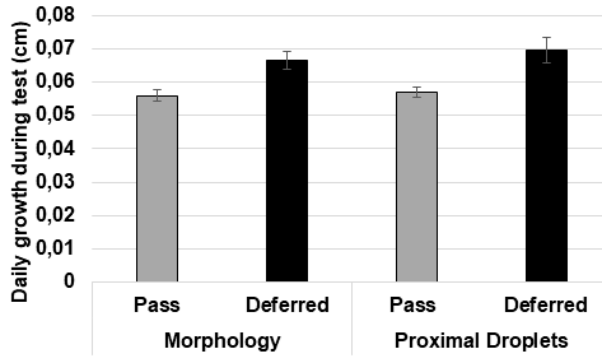


Figura 2: Los toros que experimentan mayor crecimiento de la circunferencia escrotal tienen más problemas para pasar un examen morfológico (P = 0,0008), y también tienen una mayor presencia de proximal droplet (P = 0,0018).

La contribución del toro a la fertilización

Para lograr la fecundación, el espermatozoide tiene que nadar desde el lugar de deposición hasta la ampolla del oviducto, durante este proceso se somete a la capacitación para poder enlazar con la zona pelúcida correctamente y fertilizar el ovocito. El tracto reproductivo femenino es la primera barrera física al transporte de los espermatozoides, y una buena concentración y motilidad de los espermatozoides es crucial para el transporte efectivo de los espermatozoides. En la crianza natural, el número de espermatozoides depositados en el tracto femenino suele ser muy superior a la necesaria, de manera que la concentración no es un problema. En el caso de semen congelado, las organizaciones de IA venden pajuelas que contienen un número de espermatozoides que se prevé proporcionarán la mayor probabilidad de fecundación, sobre la base de datos históricos para toros en general, y de datos sobre la calidad específica del semen y de la fertilidad de los toros individuales. (DeJarnette and Amann, 2010). Así, el número insuficiente de espermatozoides en alcanzar el ovocito no es una causa importante del fracaso reproductor. El tracto reproductivo femenino interactúa con el esperma a fin de facilitar el transporte al lugar de la fertilización a la vez que selecciona los mejores espermatozoides para la fecundación e impide la entrada de agentes patógenos en el tracto. Investigaciones recientes realizadas con el fin de entender la comunicación entre los espermatozoides y el epitelio y el efecto de eso en la competencia del esperma y en el éxito de la fertilización (Suarez, 2016). Los estudios en ratones han demostrado que la motilidad por sí solo no permite a los espermatozoides pasar a través de los uniones uterotubales, y la presencia de ciertas proteínas en la membrana plasmática de los espermatozoides de alguna manera interactúa con el revestimiento de la unión uterotubal y podrían ser necesarias para la interacción entre los espermatozoides y el ovocito. (Okabe, 2015).

Cuando el espermatozoide alcanza el oviducto, se une al epitelio, formando un depósito de almacenamiento hasta la ovulación. Este proceso parece mantener la viabilidad de los espermatozoides, así como evitar la polyspermia al permitir que sólo unos pocos espermatozoides alcancen los ovocitos a la vez (Pollard *et al.*, 1991; Chian and Sirard, 1995). En el ganado vacuno, la Binder of Sperm 1 (BSP -1) es la proteína más abundante en el plasma seminal bovina, y se ha demostrado que prolonga la viabilidad de los espermatozoides al estabilizar la membrana plasmática durante este período de almacenamiento (Greube *et al.*, 2001). Durante el proceso de capacitación de espermatozoides, es necesario que ocurran

cambios específicos a fin de que la esperma se pueda soltar del epitelio oviductal para reunirse y enlazar con el ovocito. Estos cambios no están bien establecidos, pero podrían estar relacionados con la modificación de proteínas de la superficie de los espermatozoides que podría reducir la afinidad de unión con los receptores oviductales o con la hiperactivation de la esperma, que podría proporcionar la fuerza necesaria para que el esperma se aleje del epitelio oviductal (Suarez, 2016). La capacitación de los espermatozoides de toro mostró una menor unión con el epitelio oviductal (Lefebvre y Suárez, 1996), lo que podría atribuirse a la pérdida o modificación de las proteínas BSP en la superficie de los espermatozoides. En resumen, no existe un factor único, derivado del macho o de la hembra, que probablemente determina el éxito o fracaso de los espermatozoides de lograr la fertilización, pero en realidad, es evidente que existen varios factores que juegan un papel en este proceso.

La contribución del toro a una gestación temprana

Es bien sabido que tanto el ovocito y el esperma contribuyen al genoma embrionario. Varios estudios han mostrado que las interrupciones en el ADN paterno influye negativamente en la calidad embrionaria (Virro *et al.*, 2004; Benchaib *et al.*, 2007; Simon and Lewis, 2011). La mala calidad del esperma puede retrasar la formación pronuclear y, por lo tanto, el desarrollo embrionario, debido a una reducción de la integridad del ADN. Sin embargo, hay un gran debate en la literatura sobre el alcance de los controles maternos y paternos de las primeras etapas del desarrollo del embrión. En humanos, se ha demostrado que la cromatina dañado por el esperma influye en todas las etapas del desarrollo del embrión; sin embargo, el efecto es más prominente después de la activación del genoma embrionario (Simon and Lewis, 2011). Otros estudios demuestran que las anormalidades irreparables en el genoma paterno afectan al desarrollo de los blastocistos incluso cuando se utiliza una inyección intracitoplasmática de espermatozoides para fecundar los ovocitos (Jones *et al.*, 1998). Por lo tanto, la evaluación de la cromatina y de la integridad del ADN, junto con otras pruebas de la calidad del semen puede ser un criterio válido para identificar y diagnosticar la fertilidad masculina normal. El Ensayo de la Estructura de la Cromatina del Esperma (SCSA) es una técnica para medir el porcentaje de espermatozoides con una alta susceptibilidad a tener una desnaturalización del ADN inducido por bajos niveles de pH- y se expresa en forma del índice de fragmentación de ADN (Virro *et al.*, 2004). En el ganado vacuno, los datos del SCSA se correlacionan significativamente con la fertilidad de campo del toro (bull stud field fertility) (Ballachey *et al.*, 1987) y la fertilidad del toro medido por su rendimiento heterospermico (Ballachey *et al.*, 1988).

La crioconservación de semen y la inseminación artificial han sido un gran avance en la industria ganadera, sin embargo, el proceso de refrigeración, congelación y descongelación puede dañar las estructuras de las membranas de los espermatozoides y, en consecuencia, reducir la calidad del semen cuando se compara con semen fresco. La composición del extensor utilizado durante el proceso de la conservación del semen también pueden alterar la calidad de la cromatina de semen (Karabinus *et al.*, 1991). El efecto del daño al ADN de los espermatozoides en la reproducción del ganado no está tan bien documentado como en las tecnologías de reproducción asistida humana, pero se supone que es similar. La integridad del ADN de los espermatozoides es un rasgo no-compensable, lo que significa que no puede ser compensada por el aumento de la concentración de la dosis de espermatozoides. Por lo tanto, las nuevas investigaciones dirigidas a desarrollar métodos para reducir el riesgo de deñar el ADN durante la conservación del semen, así como la identificación de los toros con una alta incidencia de trastornos genéticos, pueden ayudar a mejorar la fertilidad de los machos.

La contribución del toro a una gestación tardía

Anteriormente, el impacto de la mala calidad de los espermatozoides se limitaba a la pérdida temprana de la gestación y la mayoría de los posteriores fracasos reproductivos se atribuían a un fallo de las hembras, a factores medioambientales, o a defectos letales en el embrión en sí. Sin embargo, muchos estudios de campo sobre la fertilidad han mostrado diferencias entre la capacidad de los toros a engendrar gestaciones exitosas que llegan a su término y que resultan en descendientes vivos (Markusfeld-Nir, 1997; López-Gatius *et al.*, 2002; Pegorer *et al.*, 2007; Franco *et al.*, in press). Sobre la base de la importante influencia que el acto de engendrar juega en el desarrollo placentario, el evaluar las relaciones entre el padre y la pérdida de una gestación podría proporcionar una valiosa perspectiva sobre la fertilidad masculina. En los embriones que se derivan sólo de la genética materna, el embrión propiamente dicho (es decir, cuerpo, órganos, etc.) se desarrolla, pero el desarrollo placentario se ve drásticamente limitado, resultando en la muerte del embrión. Alternativamente, los embriones que se derivan sólo de la genética paterna o masculina no forman un embrión propiamente dicha, sino una robusta placenta (Surani *et al.*, 1987b, a). Recientemente, Selvaraju *et al.*, (2017) informó de la presencia del transcriptores placentarios asociados con el desarrollo, como la *PAG5*, *PAG7*, y *PAG10* en espermatozoides intactos de longitud completa, sugiriendo que los transcriptores portados por los espermatozoides potencialmente influyen más allá el desarrollo embrionario temprano, tales como los procesos de implantación y placentación.

CONCLUSIÓN

La predicción de la fertilidad masculina es un esfuerzo constante, tanto en la industria mundial de carne y lechera. El desarrollo de técnicas *in vitro* para predecir con precisión la fertilidad en el campo tendría un gran impacto en el aumento global de la eficiencia reproductora. En esta revisión, hemos señalado aspectos importantes a considerar cuando se evalúa el efecto del toro en el establecimiento y mantenimiento de la gestación. Es importante darse cuenta de que incluso cuando los espermatozoides parecen poseer todas las características necesarias para el éxito de la fertilización, aún existen diferencias relativas, por lo que hacemos hincapié en la necesidad de una mejor comprensión de las características genéticas y moleculares de los espermatozoides, así de cómo interactúan los espermatozoides con el tracto reproductivo femenino después de la inseminación. Otro punto clave es que los toros contribuyen de forma significativa a la pérdida de la gestación, y esto no debe ignorarse a la hora de medir la fecundidad. Explorar esta relación puede ayudar a comprender las causas de la pérdida de una gestación, así como al desarrollo de herramientas para identificar y seleccionar los toros más fértiles.

BIBLIOGRAFÍA

- Amann, R., and R. Hammerstedt. 1993. In vitro evaluation of sperm quality: an opinion. Journal of Andrology 14(6):397-406.
- Ballachey, B., W. Hohenboken, and D. Evenson. 1987. Heterogeneity of sperm nuclear chromatin structure and its relationship to bull fertility. Biology of reproduction 36(4):915-925.

- Ballachey, B. E., D. P. Evenson, and R. G. SAACKE. 1988. The sperm chromatin structure assay relationship with alternate tests of semen quality and heterospermic performance of bulls. Journal of andrology 9(2):109-115.
- Barroso, G., C. Valdespin, E. Vega, R. Kershenovich, R. Avila, C. Avendaño, and S. Oehninger. 2009. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. Fertility and sterility 92(3):835-848.
- Bellows, D., S. Ott, and R. Bellows. 2002. Review: Cost of Reproductive Diseases and Conditions in Cattle. The Professional Animal Scientist 18(1):26-32.
- Benchaib, M., J. Lornage, C. Mazoyer, H. Lejeune, B. Salle, and J. F. Guerin. 2007. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. Fertility and sterility 87(1):93-100.
- Braundmeier, A., and D. Miller. 2001. Invited review: the search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. Journal of dairy science 84(9):1915-1925.
- Chian, R.-C., and M.-A. Sirard. 1995. Fertilizing ability of bovine spermatozoa cocultured with oviduct epithelial cells. Biology of reproduction 52(1):156-162.
- DeJarnette, J., and R. Amann. 2010. Understanding estimates of AI sire fertility: From A to Z. In: 23rd technical conference on artificial insemination & reproduction, Milwaukee, WI
- DeJarnette, J., R. Saacke, J. Bame, and C. Vogler. 1992. Accessory sperm: their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. Journal of animal science 70(2):484-491.
- Farrell, P., G. Presicce, C. Brockett, and R. Foote. 1998. Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. Theriogenology 49(4):871-879.
- Franco, G. A., R. F. Peres, C. F. G. Martins, S. T. Reese, J. L. Vasconcelos, and K. G. Pohler. in press. Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy associated glycoproteins (PAGs) production in Nelore cows. Journal of Animal Science
- Greube, A., K. Müller, E. Töpfer-Petersen, A. Herrmann, and P. Müller. 2001. Influence of the bovine seminal plasma protein PDC-109 on the physical state of membranes. Biochemistry 40(28):8326-8334.
- Hafez, E. S. E., and B. Hafez. 2013. Reproduction in farm animals. John Wiley & Sons.
- Jones, G. M., A. O. Trounson, N. Lolatgis, and C. Wood. 1998. Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer 1. Fertility and Sterility 70(6):1022-1029.
- Karabinus, D., D. Evenson, and M. Kaproth. 1991. Effects of egg yolk-citrate and milk extenders on chromatin structure and viability of cryopreserved bull sperm. Journal of dairy science 74(11):3836-3848.
- Larsson, B., and H. Rodrıguez-Martınez. 2000. Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility? Animal Reproduction Science 60:327-336.
- López-Gatius, F., P. Santolaria, J. Yaniz, J. Rutllant, and M. López-Béjar. 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. Theriogenology 57(4):1251-1261.
- Markusfeld-Nir, O. 1997. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 31(3-4):245-255.
- Mercadante, P. M., K. M. Waters, V. R. G. Mercadante, G. C. Lamb, M. A. Elzo, S. E. Johnson, D. O. Rae, J. V. Yelich, and A. D. Ealy. 2013. Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle1. Journal of Animal Science 91(8):3693-3701. doi: 10.2527/jas.2012-6130
- Okabe, M. 2015. Mechanisms of fertilization elucidated by gene-manipulated animals. Asian journal of andrology 17(4):646.
- Pegorer, M. F., J. L. M. Vasconcelos, L. A. Trinca, P. J. Hansen, and C. M. Barros. 2007. Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during summer heat stress. Theriogenology 67(4):692-697. doi: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.042
- Pollard, J. W., C. Plante, W. Allan King, P. J. Hansen, K. J. Betteridge, and S. S. Suarez. 1991. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial cells. Biology of reproduction 44(1):102-107.
- Rodríguez-Martínez, H. 2003. Laboratory semen assessment and prediction of fertility: still utopia? Reproduction in Domestic Animals 38(4):312-318.
- Saacke, R., J. Bame, D. Karabinus, J. Mulins, and S. Whitman. 1988. Transport of abnormal sperm in the artificially inseminated cow based upon accessory sperm in the zona pellucida. In: Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. p 292-294.
- Saacke, R., J. Dalton, S. Nadir, R. Nebel, and J. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. Animal reproduction science 60:663-677.
- Saleh, R. A., A. Agarwal, E. A. Nada, M. H. El-Tonsy, R. K. Sharma, A. Meyer, D. R. Nelson, and A. J. Thomas. 2003. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. Fertility and Sterility 79:1597-1605.
- Salisbury, G. W., and N. L. Vandemark. 1961. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.
- Selvaraju, S., S. Parthipan, L. Somashekar, A. P. Kolte, B. K. Binsila, A. Arangasamy, and J. P. Ravindra. 2017. Occurrence and functional significance of the transcriptome in bovine (Bos taurus) spermatozoa. Scientific Reports 7
- Simon, L., and S. E. Lewis. 2011. Sperm DNA damage or progressive motility: which one is the better predictor of fertilization in vitro? Systems biology in reproductive medicine 57(3):133-138.
- Simon, L., K. Murphy, M. Shamsi, L. Liu, B. Emery, K. Aston, J. Hotaling, and D. Carrell. 2014. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development.

Human Reproduction 29(11):2402-2412.

- Sreenan, J., and M. Diskin. 1986. The extent and timing of embryonic mortality in the cow, Embryonic mortality in farm animals. Springer. p. 1-11.
- Starbuck, M. J., R. A. Dailey, and E. K. Inskeep. 2004. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. Animal reproduction science 84(1):27-39.
- Suarez, S. S. 2016. Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. Cell and tissue research 363(1):185-194.
- Surani, M. A., S. C. Barton, and M. L. Norris. 1987a. Experimental reconstruction of mouse eggs and embryos: an analysis of mammalian development. Biol Reprod 36(1):1-16.
- Surani, M. A., S. C. Barton, and M. L. Norris. 1987b. Influence of parental chromosomes on spatial specificity in androgenetic—parthenogenetic chimaeras in the mouse. Nature 326(6111):395-397. doi: 10.1038/326395a0
- Utt, M. D. 2016. Prediction of bull fertility. Animal Reproduction Science 169(Supplement C):37-44. doi: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.12.011
- Virro, M. R., K. L. Larson-Cook, and D. P. Evenson. 2004. Sperm chromatin structure assay (SCSA®) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. Fertility and sterility 81(5):1289-1295.
- Zhang, B., B. Larsson, N. Lundeheim, M. Haard, and H. Rodriguez-Martinez. 1999. Prediction of bull fertility by combined in vitro assessments of frozen-thawed semen from young dairy bulls entering an AI-programme. International journal of andrology 22(4):253-260.

ENGLISH VERSION

Non-traditional methods to determine sire fertility

Pohler, K.G., G. A. Franco, S. T. Reese, Z.J. Bartenslager, F. N. Schrick, J. D. Rhinehart, F. G. Dantas, S. L. Speckhart, T. B. Ault, R. V. Oliveira, T. S. Maia, A. P. O. Santos

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX

Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN

KEY-POINTS

- Variance on pregnancy rate to TAI caused by sire fertility is substantial and the causes remains unknown
- The innumerous factors that can affect sire fertility and diversity in fertility measurements reports increase the uncertainty of sire fertility prediction
- There is an effect of sire in pregnancy loss and PAG genes is a potential marker to identify high and low pregnancy loss sires
- Estrus expression also affect sire performance. Identifying sires that perform well independently of estrus might help improve reproductive efficiency

INTRODUCTION

For over a century, scientists have attempted to develop techniques to accurately predict the fertility potential of a male's semen sample. In most livestock species, the sire is responsible for multiple pregnancies per year and up to hundreds of thousands of pregnancies if used for artificial insemination (AI). Use of sub fertile or infertile sires can have devastating impacts in regard to the herd's reproductive efficiency. Even though fertility studies are expanding rapidly as molecular, genomic and computer techniques explode, our understanding of male fertility is still far from complete.

An ideal male fertility test must be economically practical, provide consistent results and have the ability to measure multiple variables as spermatozoa must meet many requirements for successful fertilization. A perfect test should be able to evaluate not only the ability of the spermatozoa to reach the site of fertilization, but also the ability to fertilize the oocyte, establish and maintain a successful pregnancy (Braundmeier and Miller, 2001).

Sperm characteristics

For much time, sperm abnormalities have been associated with male infertility and sterility in studied species (Chenoweth, 2005). Abnormalities associated with sperm have a significant economic impact on a producer's calf crop. Two categories are prevalent for sperm abnormalities, major and minor defects. Abnormalities that are within substantial proportion, consistent in occurrence, associated with male infertility, and may be heritable are classified as major defects (Chenoweth, 2005). These defects are categorized as acrosome, sperm head, sperm mid piece, and sperm tail defects (Chenoweth, 2005).

Abnormalities within semen can be caused in number of different ways. For this section, major and some minor defects will be discussed within two different regions of the sperm: head and tail.

Sperm head defects

Acrosome defects, specifically knobbed acrosomes, have a genetic relationship with the Friesian bull as reviewed by Chenoweth (2005). Since the genetic link within Friesian bulls, other breeds have noticed a similar existence, such as Angus, Horned Hereford, Charolais, Maine Anjou, Salers and Simmental (Barth and Oko, 1989; Chenoweth, 2005). Although genetics plays a role in knobbed acrosomes, environment is often associated with heat regulation issues within testes, illness, nutritional deficiencies, and more (Jelinski *et al.*, 2002).

Detached heads are common to find in small amounts within bull semen samples (Barth and Oko, 1989). Hereford bulls, along with certain dairy breeds, are genetically at a higher risk of detached heads (Chenoweth, 2005). As reviewed by Chenoweth, 2005, detached heads can be observed at the proximal end of the midpiece; however, often the presence of a droplet can produce the false illusion of a micro-cephalic sperm head. Hypoplasia of the testicles are associated with increased numbers of detached heads (Barth and Oko, 1989). It is also thought bulls with inflammation, heating of testicles and prolonged inactivity can experience an increased amount of detached heads (Barth and Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002).

Tail Defects

Dag defect, named after the Jersey bull in which the defect was first identified, has a strong hereditary basis with a genetic correlation at 0.50% (Chenoweth, 2005; Roberts *et al.*, 2010). It should be noted that environment will play a role with this disorder in the testis or epididymis (Barth and Oko, 1989; Chenoweth, 2005).

Pseudodroplets defect, not to be confused with proximal

droplets as they are denser and irregular in shape, are often rare in finding (Barth and Oko, 1989; Chenoweth, 2005). A hereditary basis is suggested with five Friesian bulls having relation with the defect (Chenoweth, 2005). It is reported that with the added mitochondrial accumulations this defect can be associated with Bovine Ephemeral Fever as well as gossypol spermatoxicity (Chenoweth, 2005).

Proximal droplets are most often associated with immaturity in young bulls (Barth and Oko, 1989). If seen in excess, especially in older bulls, there might be a link to the developmental process (Jelinski *et al.*, 2002). Proximal droplets are now thought to have relevance as it relates to heritability with a 0.37 genetic correlation (Roberts *et al.*, 2010).

Distal midpiece reflex's (bent tails), although classified as a minor defect, are of the most commonly found tail abnormalities in bulls (Barth and Oko, 1989). It is thought that sperm cells are impacted by this defect when they are exposed to abnormal secretions in the epididymis (Barth and Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002). This secretion can be the influence of several factors mainly from stress induced factors (Barth and Oko, 1989; Jelinski *et al.*, 2002).

How to measure fertility?

Fertility is broadly defined as the ability to produce a viable offspring. Between mating and birth, there are several time points that are used to evaluate fertility success in livestock, including fertilization rate, non-return to estrus rate, conception rate, pregnancy rate and calving rate which are correlated with different aspects of the reproductive cycle. Even though each measurement provides useful information, emphasis of a cattle system should be placed on the final product, represented by calving rate.

Fertilization rate can be evaluated *in vitro* by presence of first cell division after 48h of insemination or *in vivo* by flushing the uterus 7 days after insemination to recover embryos or unfertilized oocytes (Sreenan and Diskin, 1986). However, the technique of flushing does not guarantee that all embryos will be recovered, limiting the use of this index as a true estimate of fertilization. This measurement overestimates the conception rate by about 10-15%, mostly due to animals in anestrus, early pregnancy loss or failure to detect estrus (Hafez and Hafez, 2013).

Conception rate represents the percentage of pregnant animals over number of animals inseminated after detection of estrus, similar to fertilization rate. However, due to limitations of early pregnancy diagnosis, conception rate is usually reported as pregnant animals at some point after breeding (e.g. 30 to 45 days) and therefore, account for not only fertilization rate, but also early pregnancy loss. Pregnancy rate is the most common reported measurement of herd fertility. It accounts for the number of animals that conceived in a defined time period over the number of animals eligible for breeding during the defined time period. This time period can be either the 21-day estrus interval, a single day of timed AI, or breeding season interval (e.g. 90 days, 120 days)(DeJarnette and Amann, 2010). Identification of pregnant animals are often obtained using rectal palpation, ultrasonography or blood-based pregnancy tests.

From a productive and economic point of view, the most appropriate measurement of fertility is calving rate. Defined as the amount of calves born from total number of cows inseminated or exposed to a bull, this index accounts for both fertilization rate and all subsequent pregnancy losses. This measurement, however, provides little advantage to a producer because it can only be obtained 9 months after the breeding season.

In cattle, most male fertility traits have only been studied in relation to fertilization and early embryonic development, represented by conception or pregnancy rate. Historically, pregnancy loss after this time is usually associated with female infertility only. However, recent studies have shown paternal genetics provide a significant contribution to embryonic/fetal mortality in cattle (López-Gatius *et al.*, 2002; Starbuck *et al.*, 2004; Franco *et al.*, in press) that can drastically affect calving rate and should be accounted for when measuring the male effect on herd fertility.

How to predict male fertility?

The relationship between *in vitro* semen quality and field fertility has been the subject of considerable study (Amann and Hammerstedt, 1993; Farrell *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1999; Larsson and Rodrıguez-Martınez, 2000; Rodríguez-Martínez, 2003). Unfortunately, most current methods cannot accurately describe the fertility level that the analyzed semen will reach *in vivo*. Instead these estimates are only established with field fertility tests after several hundreds or thousands of females have been inseminated. This can cost money and time for both semen companies and producers. For this reason, analyses of fresh and processed semen have become more detailed, moving from simply evaluating sperm traits (e.g. motility, morphology, structure integrity) to determining fertilizing potential of the sample through genetic and molecular markers and aiming for prediction of prognostic values (Rodríguez-Martínez, 2003).

There are several factors that affect semen quality and increase difficulty of estimating fertility; including variability between ejaculates, processing batches, environmental factors and semen handling after leaving the bull stud. Health, reproductive status and management practices of bulls and cow herd during breeding season also contributes significantly for variability in fertility (Figure 1). A review presented by (Utt, 2016) pointed out that in order to maximize accuracy and precision of fertility prediction, relevant sources of variation should be accounted for. Unexplained variation and the number of observations, create a degree of uncertainty, or "noise" that compromises the precision of sire fertility prediction. If differences in fertility predictions among bulls are not greater than the "noise", the likelihood of accurately predicting the difference on fertility among bulls is minimal.

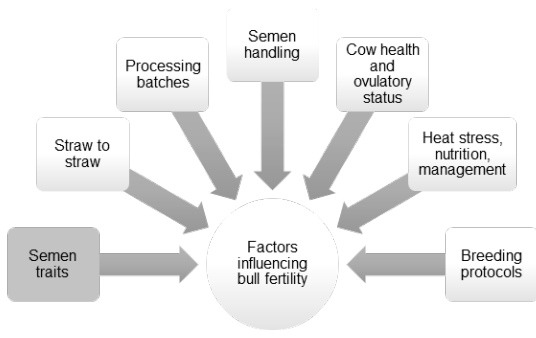


Figure 1. Factors influencing bull fertility prediction.

Variables that can affect prediction of bull fertility includes variability related to the semen itself, including inherently variability of the measure (semen traits), straw-to-straw, processing batches and the semen handling after leaving the stud, as well as variance related to management and female components. Adapted from Utt (2016).

How to improve sire fertility?

Variation in pregnancy rate to TAI caused by sire fertility is

substantial. Understanding factors that affect the establishment and maintenance of pregnancy is critical to developing management strategies to increase fertility. Reproductive performance gradually improves as sperm number per ejaculate increases, until a plateau is achieved above which additional increases in sperm number or quality does not improve fertility (DeJarnette and Amann, 2010). The physiological basis for this response is based on the concept that a threshold number of competent sperm need to be transported to the oviduct to successfully fertilize the ova. Hence, improvements in fertility will occur with additional sperm until this threshold level is reached. However, a greater insemination dose beyond this point does not enhance fertility because the optimal population needed for successful fertilization is already present in the oviduct (Salisbury and Vandemark, 1961). This concept is based on the presence of compensable or noncompensable traits in the sperm. Compensable traits are those that do not affect fertility, if high numbers of spermatozoa are used during insemination and include motility, morphology, ability to undergo capacitation and initiate an acrosome reaction. In contrast, noncompensable traits are those that cannot be overcome by increasing the number of spermatozoa in the insemination dose (Saacke *et al.*, 2000; Braundmeier and Miller, 2001). These defects affect the function of spermatozoa during the later stages of fertilization and embryonic development, such as nuclear vacuoles (Saacke *et al.*, 1988), morphological deficiencies that do not suppress movement (DeJarnette *et al.*, 1992), and defective chromatin structure (Ballachey *et al.*, 1988). Understanding the form and function of spermatozoa and consequences of particular defects is imperative to developing methods to identify high fertility sires and improve reproductive efficiency.

Measurable traits for sire success

Recent findings might prove useful methods to evaluate beef bulls fertility. Proximal droplets in beef bulls were evaluated during a 4 year study with 755 bulls (Schrick *et al.*, unpublished). Bulls between 12 – 16 months of age were eligible for the study along with other specifications set forth by test stations. Scrotal Circumference growth was analyzed for morphological failure and for proximal droplet failure, indicating bulls with rapid growth had a higher chance of deferment on a breeding soundness examination (Schrick *et al.* unpublished; figure 2). In support, Pratt *et al.* (1991) rapid scrotal circumference growth for bulls with smaller scrotal circumferences reduces fertility. We believe bulls with smaller scrotal circumferences cannot maintain the physiological demands while continuing to mature. Selection emphasis on bulls with larger scrotal circumferences continues to be the same of that from 27 years ago (Pratt *et al.*, 1991).

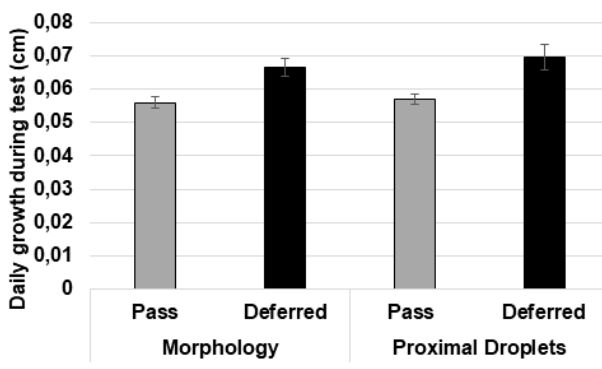


Figure 2: Bulls who experience more scrotal circumference growth experience more issues with passing not only a morphological exam (P = 0.0008) but also have an increased proximal droplet presence (P = 0.0018).

Sire contribution to fertilization

To achieve fertilization, sperm have to swim from site of deposition to the ampulla of the oviduct, during this process undergo capacitation to be able to bind to zona pellucida and successfully fertilize the oocyte. The female reproductive tract is the first physical barrier to sperm transport, and good sperm concentration and motility is crucial for efficient sperm transport. In natural breeding, the number of sperm deposited in female tract is usually far above the required, therefore concentration is not a problem. In the case of frozen semen, AI organizations sell straws that contain a number of sperm anticipated to provide optimum probability of fertilization, based on historic data for bull in general, and specific semen quality and fertility data for individual bulls. (DeJarnette and Amann, 2010). Thus insufficient number of spermatozoa's reaching the oocyte is not a major cause of reproductive failure. The female reproductive tract interacts with sperm in order to facilitate transport to the site of fertilization at the same time as selecting the best sperm for fertilization and impeding entrance of pathogens into the tract. Recent research has been done in order to understand the communication between sperm and epithelium and the effect of that in sperm competence and fertilization success (Suarez, 2016). Studies in mice have shown that motility alone does not enable sperm to pass through the uterotubal junction, and the presence of certain proteins on sperm plasma membrane somehow interacts with the lining of uterotubal junction and might be necessary for sperm oocyte interaction. (Okabe, 2015).

When sperm reaches the oviduct, binds to epithelium, forming a storage reservoir until ovulation. This process seems to maintain sperm viability as well as prevent polyspermia by allowing only a few sperm at a time to reach oocytes (Pollard *et al.*, 1991; Chian and Sirard, 1995). In cattle, Binder of Sperm 1 (BSP -1) is the most abundant protein in bovine seminal plasma, and it has been shown to prolong sperm viability by acting to stabilize the plasma membrane during this storage period (Greube *et al.*, 2001). During the process of sperm capacitation, specific changes need to happen in order to promote the detachment of sperm from oviductal epithelium to meet and bind to the oocyte. These modifications are not well established, but might be related with modification of sperm surface proteins that could reduce binding affinity for oviductal receptors or with sperm hyperactivation, that could provide the force necessary for sperm to pull away from the oviductal epithelium (Suarez, 2016). Capacitated bull sperm showed reduced binding to oviductal epithelium (Lefebvre and Suarez 1996), which might be attributable to loss or modification of the BSP proteins on the sperm surface. In summary, no single factor, male or female derived, likely dictates the ultimate success or failure of sperm to achieve fertilization, but in fact, it is obvious that several factors have a role in this process.

Sire contribution to early pregnancy

It is well established that both the oocyte and sperm contribute to the embryonic genome. Several studies have shown that disruptions in paternal DNA negatively impact embryo quality (Virro *et al.*, 2004; Benchaib *et al.*, 2007; Simon and Lewis, 2011). Poor sperm quality can delay pronuclear formation and therefore embryonic development, due to reduced DNA integrity. However, there is much debate in the literature about the extension of maternal and paternal controls of early stages of embryo development. In humans it has been shown that

sperm damaged chromatin influence all embryo development stages, however, the effect is more prominent after embryonic genome activation (Simon and Lewis, 2011). Other studies demonstrate that irreparable abnormalities in paternal genome affect blastocyst development even when intracytoplasmic sperm injection is used to fertilize oocytes (Jones *et al.*, 1998). Therefore, evaluating chromatin and DNA integrity, together with others semen quality tests may be a valid approach to identify and diagnosis normal male fertility. Sperm chromatin structure assay (SCSA) is a technique to measure the percentage of sperm with a high susceptibility to low pH- induced DNA denaturation and is expressed as the DNA fragmentation index (Virro *et al.*, 2004). In cattle, SCSA data was significantly correlated with bull stud field fertility (Ballachey *et al.*, 1987) data and bull fertility measured by heterospermic performance (Ballachey *et al.*, 1988).

Semen cryopreservation and artificial insemination has been a major advance in the livestock industry, however, the process of cooling, freezing and thawing can damage the sperm membrane structures, and consequently reduce semen quality when compared with fresh semen. The composition of extender used during the process of semen preservation can also alter semen chromatin quality (Karabinus *et al.*, 1991). The effect of sperm DNA damage in cattle reproduction has not been well documented as in human assisted reproductive technologies, but it is expected to be similar. Sperm DNA integrity is a non-compensable trait, meaning it cannot be compensated for by increasing sperm dose concentration. Therefore, further research to develop methods to reduce the risk of DNA damage during semen preservation as well as identifying bulls with high incidence of genetic disorders can help improve male fertility.

Sire contribution to late pregnancy

Previously, the impact of poor quality spermatozoa was restricted to early pregnancy loss and most subsequent reproductive failure was attributed to a female deficit, environmental factors, or lethal defects in the embryo itself. However, many field fertility studies have shown differences between bulls' ability to sire successful pregnancies that go to term and led to a live offspring (Markusfeld-Nir, 1997; López-Gatius *et al.*, 2002; Pegorer *et al.*, 2007; Franco *et al.*, in press). Based on the significant influence that sire plays in placental development, evaluating the relationships between sire and pregnancy loss could provide valuable insight to male fertility. In embryos derived from only maternal genetics, the embryo proper (i.e. body, organs, etc.) develops, but placental development is dramatically limited resulting in death of the embryo. Alternatively, embryos derived from only paternal or male genetics results in no embryo proper but a robust placenta (Surani *et al.*, 1987b, a). Recently, Selvaraju *et al.*, (2017) reported the presence of placental development-associated transcripts, such as *PAG5*, *PAG7* and *PAG10* in full length and intact spermatozoa, suggesting that sperm-borne transcripts potentially have an influence beyond early embryonic development, such as during the processes of implantation and placentation.

CONCLUSION

Prediction of male fertility is a constant effort in both the beef and dairy industry worldwide. Developing *in vitro* techniques to accurately predict field fertility would have a major impact on increasing overall reproductive efficiency. In this review we pointed out important aspects to be considered when evaluating the effect of sire on pregnancy establishment and maintenance. It is important to realize that even when sperm appear to possess all the required traits for successful fertilization, relative difference still exist, emphasizing the need for a better understanding of sperm molecular and genetic characteristics as well as how spermatozoa interact with the female reproductive tract after insemination. Another key point is that sires have a significant contribution to pregnancy loss that should not to be ignored when measuring fertility. Exploring this relationship can help understanding the causes of pregnancy loss, as well as developing tools to identify and select higher fertility sires.

REFERENCES

- Amann, R., and R. Hammerstedt. 1993. In vitro evaluation of sperm quality: an opinion. Journal of Andrology 14(6):397-406.
- Ballachey, B., W. Hohenboken, and D. Evenson. 1987. Heterogeneity of sperm nuclear chromatin structure and its relationship to bull fertility. Biology of reproduction 36(4):915-925.
- Ballachey, B. E., D. P. Evenson, and R. G. SAACKE. 1988. The sperm chromatin structure assay relationship with alternate tests of semen quality and heterospermic performance of bulls. Journal of andrology 9(2):109-115.
- Barroso, G., C. Valdespin, E. Vega, R. Kershenovich, R. Avila, C. Avendaño, and S. Oehninger. 2009. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. Fertility and sterility 92(3):835-848.
- Bellows, D., S. Ott, and R. Bellows. 2002. Review: Cost of Reproductive Diseases and Conditions in Cattle. The Professional Animal Scientist 18(1):26-32.
- Benchaib, M., J. Lornage, C. Mazoyer, H. Lejeune, B. Salle, and J. F. Guerin. 2007. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. Fertility and sterility 87(1):93-100.
- Braundmeier, A., and D. Miller. 2001. Invited review: the search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. Journal of dairy science 84(9):1915-1925.
- Chian, R.-C., and M.-A. Sirard. 1995. Fertilizing ability of bovine spermatozoa cocultured with oviduct epithelial cells. Biology of reproduction 52(1):156-162.
- DeJarnette, J., and R. Amann. 2010. Understanding estimates of AI sire fertility: From A to Z. In: 23rd technical conference on artificial insemination & reproduction, Milwaukee, WI
- DeJarnette, J., R. Saacke, J. Bame, and C. Vogler. 1992. Accessory sperm: their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. Journal of animal science 70(2):484-491.
- Farrell, P., G. Presicce, C. Brockett, and R. Foote. 1998. Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. Theriogenology 49(4):871-879.
- Franco, G. A., R. F. Peres, C. F. G. Martins, S. T. Reese, J. L. Vasconcelos, and K. G. Pohler. in press. Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy associated glycoproteins (PAGs) production in Nelore cows. Journal of Animal Science
- Greube, A., K. Müller, E. Töpfer-Petersen, A. Herrmann, and P. Müller. 2001. Influence of the bovine seminal plasma protein PDC-109 on the physical state of membranes. Biochemistry 40(28):8326-8334.
- Hafez, E. S. E., and B. Hafez. 2013. Reproduction in farm

animals. John Wiley & Sons.

- Jones, G. M., A. O. Trounson, N. Lolatgis, and C. Wood. 1998. Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer 1. Fertility and Sterility 70(6):1022-1029.
- Karabinus, D., D. Evenson, and M. Kaproth. 1991. Effects of egg yolk-citrate and milk extenders on chromatin structure and viability of cryopreserved bull sperm. Journal of dairy science 74(11):3836-3848.
- Larsson, B., and H. Rodrıguez-Martınez. 2000. Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility? Animal Reproduction Science 60:327-336.
- López-Gatius, F., P. Santolaria, J. Yaniz, J. Rutllant, and M. López-Béjar. 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. Theriogenology 57(4):1251-1261.
- Markusfeld-Nir, O. 1997. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 31(3-4):245-255.
- Mercadante, P. M., K. M. Waters, V. R. G. Mercadante, G. C. Lamb, M. A. Elzo, S. E. Johnson, D. O. Rae, J. V. Yelich, and A. D. Ealy. 2013. Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle1. Journal of Animal Science 91(8):3693-3701. doi: 10.2527/jas.2012-6130
- Okabe, M. 2015. Mechanisms of fertilization elucidated by gene-manipulated animals. Asian journal of andrology 17(4):646.
- Pegorer, M. F., J. L. M. Vasconcelos, L. A. Trinca, P. J. Hansen, and C. M. Barros. 2007. Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during summer heat stress. Theriogenology 67(4):692-697. doi: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.042
- Pollard, J. W., C. Plante, W. Allan King, P. J. Hansen, K. J. Betteridge, and S. S. Suarez. 1991. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial cells. Biology of reproduction 44(1):102-107.
- Rodríguez / Martínez, H. 2003. Laboratory semen assessment and prediction of fertility: still utopia? Reproduction in Domestic Animals 38(4):312-318.
- Saacke, R., J. Bame, D. Karabinus, J. Mulins, and S. Whitman. 1988. Transport of abnormal sperm in the artificially inseminated cow based upon accessory sperm in the zona pellucida. In: Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. p 292-294.
- Saacke, R., J. Dalton, S. Nadir, R. Nebel, and J. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. Animal reproduction science 60:663-677.
- Saleh, R. A., A. Agarwal, E. A. Nada, M. H. El-Tonsy, R. K. Sharma, A. Meyer, D. R. Nelson, and A. J. Thomas. 2003. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. Fertility and Sterility 79:1597-1605.
- Salisbury, G. W., and N. L. Vandemark. 1961. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.
- Selvaraju, S., S. Parthipan, L. Somashekar, A. P. Kolte, B. K. Binsila, A. Arangasamy, and J. P. Ravindra. 2017. Occurrence and functional significance of the transcriptome in bovine (Bos taurus) spermatozoa. Scientific Reports 7
- Simon, L., and S. E. Lewis. 2011. Sperm DNA damage or progressive motility: which one is the better predictor of fertilization in vitro? Systems biology in reproductive medicine 57(3):133-138.
- Simon, L., K. Murphy, M. Shamsi, L. Liu, B. Emery, K. Aston, J. Hotaling, and D. Carrell. 2014. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. Human Reproduction 29(11):2402-2412.
- Sreenan, J., and M. Diskin. 1986. The extent and timing of embryonic mortality in the cow, Embryonic mortality in farm animals. Springer. p. 1-11.
- Starbuck, M. J., R. A. Dailey, and E. K. Inskeep. 2004. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. Animal reproduction science 84(1):27-39.
- Suarez, S. S. 2016. Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. Cell and tissue research 363(1):185-194.
- Surani, M. A., S. C. Barton, and M. L. Norris. 1987a. Experimental reconstruction of mouse eggs and embryos: an analysis of mammalian development. Biol Reprod 36(1):1-16.
- Surani, M. A., S. C. Barton, and M. L. Norris. 1987b. Influence of parental chromosomes on spatial specificity in androgenetic—parthenogenetic chimaeras in the mouse. Nature 326(6111):395-397. doi: 10.1038/326395a0
- Utt, M. D. 2016. Prediction of bull fertility. Animal Reproduction Science 169(Supplement C):37-44. doi: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.12.011
- Virro, M. R., K. L. Larson-Cook, and D. P. Evenson. 2004. Sperm chromatin structure assay (SCSA®) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. Fertility and sterility 81(5):1289-1295.
- Zhang, B., B. Larsson, N. Lundeheim, M. Haard, and H. Rodriguez-Martinez. 1999. Prediction of bull fertility by combined in vitro assessments of frozen-thawed semen from young dairy bulls entering an AI-programme. International journal of andrology 22(4):253-260.

¿CÓMO MANEJAR LAS PÉRDIDAS DE GESTACIÓN EN REBAÑOS DE CARNE?

Pohler, K.G., Speckhart, S.L., Reese, S.T., Dantas F.G., Franco, G.A., Ault, T.B., Oliveira Filho, R. V., Maia, T. S., Santos, A. P. O., and Atabay, E.C.

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX
Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN
Philippine Carabao Center, CLSU, Science City of Munoz, Nueva Ecija, Philippines

PUNTOS CLAVE

- El diagnóstico de la gestación utilizando PAGs es un método eficaz que se basa en la detección de la presencia de una proteína específica de la gestación y está disponible comercialmente tanto para la sangre y la leche, que permite la detección de vacas no gestantes antes de lo que se consigue con la palpación rectal después de la inseminación o la transferencia de embriones
- La selección del progenitor puede afectar las concentraciones de PAGs en la circulación materna
- La expresión del estro en el momento de la IATF y TETF aumenta las tasas de gestación y disminuye la mortalidad embrionaria tardía
- Se puede usar el tamaño del tracto reproductivo y la calificación de la posición para identificar a las hembras menos fértiles en el hato
- Se puede usar la MGA a los 13-18 días post IATF para aumentar las tasas de embarazo en vacas Bos indicus

INTRODUCCIÓN

El fracaso en la reproducción es uno de los obstáculos más importantes a la rentabilidad de los rebaños de bovinos. La gestión, la infertilidad de la vaca, el toro infértil, el estrés térmico y la mortalidad embrionaria son todos factores que contribuyen a la ineficiencia reproductiva. El rebaño vacuno brasileño se compone de más de 70 millones de vacas y la mortalidad embrionaria representa una pérdida de casi 4 mil millones de reales por año (Santos y Vasconcelos, 2010). Brasil ha estado a la vanguardia de la adopción de la tecnología reproductiva, incluyendo la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), la sincronización del estro (SE), la producción de embriones in vitro (PIV), las pruebas de gestación, las pruebas de gestación de base química (PAGs), con el fin de mejorar el rendimiento genético de la cabaña vacuna nacional. Las ventas de la toros vacunos de cría brasileñas aumentaron de 3,3 millones de unidades en 1993 a 11,9 millones de unidades en 2011 (Dahlen *et al.*, 2014). Entre el 11-12% del total de la cabaña vacuna se inseminan por medio de la inseminación artificial (IA), lo que equivale a ˜5,5 millones de vacas; esta es la proporción más grande en el mundo (Ferraz *et al.*, 2012). Aunque estas tecnologías producen numerosos beneficios, los productores deben dedicar tiempo y recursos de mano de obra para implementarlas con éxito. Los protocolos de detección de estro tradicionales requieren una vigilancia dos veces al día durante periodos de tiempo prolongados y excluye a los animales que no muestran el celo de la inseminación. La IATF y los protocolos SE concebidos para ser aplicados en la sincronización a tiempo fijo han sido utilizados con resultados similares a la detección del estro en la IA con menos información. Posteriormente, la adopción de protocolos de IATF ha ido en aumento entre los productores. La pregunta es: "¿Cómo podemos nosotros, como productores, aumentar aún más las tasas de gestación de una sola inseminación o aumentar la eficiencia reproductiva?". La respuesta a esta pregunta no es tan fácil de resolver y ha suscitado nuevas investigaciones sobre cómo aumentar la madurez del folículo dominante, aumentar la competencia del ovocito, mejorar el medio ambiente uterino, y promover la salud placentaria para nombrar unos pocos. Nuestro grupo ha decidido explorar el uso de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAGs) como una prueba de gestación de base química para aumentar la eficiencia reproductiva en las vacas y reducir los casos de pérdida de la gestación.

El uso de PAGs detectados en la circulación materna como una herramienta de gestión reproductiva en el ganado

Las glicoproteínas asociadas a la gestación fueron identificadas por los investigadores que buscaban un marcador específico de la gestación que podrían utilizar para el diagnóstico de la gestación en el ganado. Mientras los PAGs han demostrado ser un marcador fiable de la gestación, aún se desconoce su papel fisiológico. Aunque se ha sugerido que los PAGs pueden ayudar en el procesamiento de los factores de crecimiento encontrados en la interfaz placenta-uterina o ayudar a la adherencia entre el útero y la placenta (Wallace *et al.*, 2015). Producidos por las células trofoblásticas binucleares de la placenta, los PAGs se introducen en la circulación materna tan pronto como a los 21 días de gestación y alcanzan niveles considerados aceptables en la actualidad para determinar con precisión el diagnóstico de la gestación at 28. Las concentraciones circulantes de PAGs se pueden ver influidas por un número de factores incluyendo la raza, el peso, la paridad, el toro progenitor, el sexo del feto y el número de fetos, junto con la etapa de la gestación y su estado (Patel *et al.*, 2004; Lobago *et al.* 2009).

La proteína específica de la gestación B (PSPB) o PAG-1 fue el primer miembro de la familia PAG identificado, una familia que abarca más de 20 proteínas individuales y dos docenas de genes. El descubrimiento del PAG-1 condujo al desarrollo de un radioinmunoanálisis (RIA) para la detección de los PAG. El estudio concluyente encontró que los PAGs eran secretadas al sistema materno y eran exclusivos de las hembras gestantes. Algunas test de gestación comerciales basadas en los PAG aún utilizan el PAG-1 como un PAG objetivo. Un estudio realizado por Green *et al.* (2005) confirmaron un ELISA que específicamente buscaba los PAGs secretadas en las primeras etapas de la gestación que tenían una vida media más corta (4,3 días versus 8,4 días) que los anteriores objetivos para reducir el potencial de falsos positivos en vacas posparto (Zoli *et al.*, 1992; N. M. de Sousa *et al.*, 2003; Green *et al.*, 2005). El ELISA fue capaz de detectar vacas gestantes o no-gestantes mediante los PAGs a los 28 días de la inseminación. Los estudios que comparen la eficacia de la ELISA PAG, RIA PAG, y la ecografía transrectal reveló resultados comparables para el diagnóstico de la gestación en el ganado a los 28 días de gestación (DG28),

aunque se identificaron algunas diferencias en la capacidad de ciertos test para detectar a los animales no-gestantes (Szenci *et al.*, 1998; Karen *et al.*, 2015). Hoy, las pruebas comerciales de PAG son extremadamente precisas y proporcionan un 98 a 99% de verdaderos positivos (gestantes) mientras que los falsos positivos (registrados como gestantes cuando en realidad no los son) son del 1-5%; sin embargo, algunos falsos positivos pueden deberse a la mortalidad embrionaria. A pesar de ello, en un estudio con vacas lecheras lactantes, los investigadores pudieron determinar (con una precisión del 95%) qué vacas sufrirían una mortalidad embrionaria o mantendrían la gestación basado en las concentraciones de PAG a los 31 días de gestación (Pohler *et al.*, 2016). Se considera que las vacas que presentaban una concentración mayor del 7,9 ng/mL seguirán adelante con la gestación, mientras que una concentración inferior a 1,4 ng/mL llevará a la mortalidad embrionaria. Es importante ser conscientes de que las pruebas de PAG comerciales simplemente da un 'sí' o 'no' para determinar la gestación el día en que se obtuvo la muestra; no tienen en cuenta qué hembras pueden experimentar una mortalidad embrionaria con posterioridad a la colección de la muestra de sangre o de leche. Las pruebas disponibles en la actualidad incluyen BioPRYN (BioTracking LLC. Moscow, ID USA), IDEXX Bovine pregnancy test (IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, ME USA) y la DG29 pregnancy test (Genex Cooperative Inc. Shawano, WI USA). El BioPRYN acepta muestras de sangre de novillas a los 25 días posteriores a la copula y de vacas a los 28 días después de la copula, el IDEXX recomienda muestras de sangre o leche del día 28, y la DG29 ha sido aprobada para utilizar muestras de sangre del día 29.

La detección del estro como una herramienta para le gestión del ganado vacuno

Varios estudios sobre diferentes razas de ganado vacuno y entornos han demostrado que un aumento de estradiol asociado con el estro tiene una correlación directa con el aumento de la fertilización y las tasas de gestación. La estradiol preovulatorio coordina varios procesos fisiológicos que contribuyen al establecimiento y mantenimiento de la gestación. Se ha demostrado que el aumento de los niveles de estradiol circulante se correlaciona positivamente con el tamaño del folículo (Atkins *et al.*, 2014), lo que ha resultado en una gran fertilidad después de la IATF. Las vacas que exhiben el estro a las 24 horas de la IATF también han suelen tener tasas de gestación mayores según se ha informado (Perry *et al.*, 2005; Perry *et al.*, 2007). El aumento en los niveles de estradiol tiene un efecto positivo sobre la preparación de la capacidad de las células foliculares a la luteinización y para segregar progesterona.

El aumento de las concentraciones circulantes de estradiol también puede facilitar la fertilización mediante un transporte más eficiente de los óvulos y de los espermatozoides (Crisman *et al.*, 1980a; Crisman *et al.*, 1980b). Una posible explicación de cómo la estradiol afecta al transporte de los espermatozoides es mediante la alteración del pH uterino en el momento del celo. En los estudios llevados a cabo por Perry y Perry (2008a; 2008b), las vacas en celo o complementadas con estradiol vieron aumentar sus concentraciones de estradiol y disminuir el pH uterino en comparación a las vacas que no presentaron señales de estro (pH 6,7 vs. 7,0, respectivamente). Además, el trabajo de Roper *et al.* (2014), indica que el pH vaginal y uterina en el momento de la IA o del ET tiene una correlación positiva con el éxito de la gestación. Las concentraciones séricas de estradiol antes del aumento del LH y la ovulación parecen regular los cambios en el medio ambiente uterino en el ganado. Se ha visto que las concentraciones de estradiol circulante alcanzan valores máximos unos 36 horas antes de la ovulación (Chenault *et al.*, 1975) y varios grupos han constatado que estos aumentos del estradiol pre-ovulatorio aumentan las probabilidades de éxito de la gestación. Jinks *et al.* (2013), menciona que las vacas donantes con mayores concentraciones circulantes de estradiol eran más propensos a ceder un embrión que un oocito no fertilizado. En el mismo estudio, las vacas destinatarias con mayores niveles de estradiol en el día 0 también presentaban mayor proporción de gestaciones establecidas (Jinks *et al.*, 2013). Además, cuando las concentraciones de estradiol en el día 0 fueron de <8,4 pg/mL, se observó una disminución en las gestaciones.

Hay una creciente cantidad de literatura que apoya la noción de que la presencia del estro en el momento de la IA o de la transferencia de embriones (ET) muestra una correlación directa con la disminución de la mortalidad embrionaria (Pancarci *et al.*, 2002 Souza *et al.*, 2007, Pereira *et al.*, 2016). En un estudio reciente realizado por Pereira *et al.* (2016), encontraron que la presencia del estro en el momento de la IA aumentaba el porcentaje de las tasas de gestación y disminuía el porcentaje de las pérdidas de gestaciones en vacas lecheras en lactación. Los resultados demostraron que las vacas sometidas a la IATF y que presentaban señales de estro tuvieron mayores tasas de gestación en el día 32 y en el día 60 de la gestación comparada con vacas que no presentaban estro. Además, la pérdida de una gestación entre el día 32 y el día 60 disminuyó significativamente en vacas sometidas a la IATF que presentaban señales de estro (14,4%) en comparación con las vacas que no presentan estro (20,1%). De forma similar, las vacas que fueron sometidas a la transferencia de embriones a tiempo fijo (FTEN) mostraron resultados paralelos a las vacas sometidas a la IATF. Globalmente, los resultados indican que la expresión del estro en el momento de la IATF y antes del FTET está asociada positivamente con un aumento de las tasas de gestación y una disminución de la mortalidad embrionaria tardía.

En un estudio de posparto en vacas Nelore primíparas realizado por Pohler *et al.* (2016), se colocó un sistema de clasificación mediante un parche Estrotect detector de celo para determinar una correlación entre el estro en el momento de la IATF con la concentración de PAGs secretada el día 28 de gestación. Las puntuaciones proporcionadas por los parches variaron de 0 a 4 y la puntuación aumentaba según aumentaba la activación de los parches. Por ejemplo, una puntuación de 0 indicaba que se había perdido un parche; una puntuación de 1 indicaba una activación de <25%; una puntuación de 2 indicaba una activación de <50%; una puntuación de 3 indicaba una activación de <75%; y una puntuación de 4 indicaba una activación de >75%. Los resultados indicaron que según aumentaban las puntuaciones de los parches, la concentración de PAGs en el día 28 también aumentaba significativamente (Figura 1). Por lo tanto, el uso de parches Estrotect para detectar el celo en un rebaño puede servir como un identificador barato de las vacas que sufren de una posible disminución de la fertilidad o que tienen mayor probabilidad de ser sometidas a la IA.

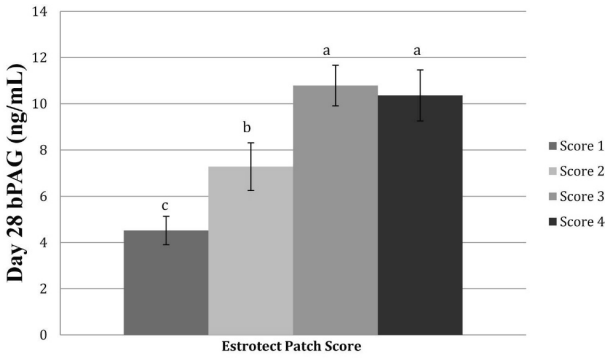


Figura 1. Correlación de estro en el momento de la IATF y concentraciones de PAG el día 28 de gestación. (Adaptado de Pohler *et al.* 2016)

Es evidente que el estradiol juega un papel fundamental en el establecimiento y mantenimiento de la gestación; sin embargo, el papel exacto sigue siendo poco claro. La literatura anterior parece apuntar principalmente a la capacidad del estradiol para mejorar el medio ambiente materno en el sistema reproductivo; aunque las correlaciones con el tamaño del folículo y la calidad embrionaria no pueden ser descartadas. En general, el aumento de estradiol preovulatorio o el aumento de la proporción de hembras que exhiben señales de estro resultan en un éxito de la gestación mayor. Por lo tanto, aumentando el estradiol preovulatorio y la expresión del estro en un programa de cría podría ayudar a mejorar las tasas de fertilidad en un hato de ganado vacuno y reducir pérdidas en la gestación.

Sistema de puntuación del tracto reproductivo como una herramienta de gestión reproductivo en ganado vacuno

La literatura anterior basado en el uso de ultrasonidos en vacas lecheras ha encontrado que el aumento del tamaño del útero se correlaciona con una disminución de la fertilidad (Báez *et al.*, 2016). La utilización de un sistema de puntuación del tamaño del tracto reproductivo y de la posición, desarrollado por Young *et al.* (2017), puede identificar fácilmente, mediante palpación rectal, las hembras menos fértiles dentro del hato. Existen tres clasificaciones del tamaño del tracto reproductivo, que son pequeña, mediana y grande, y que son designadas mediante SPS1, SPS2 y SPS3, respectivamente (Figura 2). Las vacas designadas como SPS1 tenían cuernos uterinos pequeños que yacían dentro de la cavidad pélvica, las vacas designadas SPS2 tenían cuernos uterinos intermedios que yacían parcialmente dentro de la cavidad pélvica, y la vacas designadas SPS3 tenían grandes cuernos uterinos que yacían principalmente fuera de la cavidad pélvica. Como era de esperar, los autores encontraron que la paridad afecta a las puntuaciones del tamaño y de la posición del tracto (Figura 3A). Según aumenta la paridad, el número de vacas SPS1 disminuyó, mientras que el número de vacas SPS2 y SPS3 aumentó. En las vacas lecheras en lactación, hubo un aumento significativo de las tasas de gestación entre las vacas según disminuían las puntuaciones SPS (Figura 3B). La adopción de un sistema de puntuación del tamaño y posición de tracto reproductivo puede ser una herramienta útil para ayudar a los productores a gestionar la fertilidad de sus vacas.

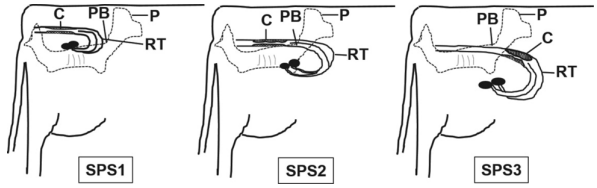


Figura 2. Sistema de puntuación del tamaño y posición del tracto reproductivo. (Adaptado de Young *et al.* 2017)

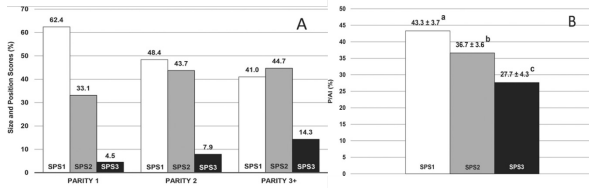


Figura 3. (A) Influencia de la paridad sobre el SPS. (B) Gestaciones/IA para cada puntuación SPS. (Adaptado de Young *et al.* 2017).

Suplementos de MGA puede aumentar el éxito de la gestación

Durante la fase lútea del ciclo estral de una vaca, la progesterona es la hormona predominante que regula la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) del hipotálamo. La GnRH regula la secreción de gonadotrofinas (FSH y LH) desde la hipófisis anterior. La FSH es responsable del reclutamiento folicular, mientras que la LH conduce a las etapas finales del crecimiento folicular, la maduración del oocito y promueve la producción y secreción de estradiol en el folículo dominante (Ginther *et al.*, 2000; Gong *et al.*, 1995; Savio *et al.*, 1993; Walters *et al.*, 1984). Se ha determinado que las concentraciones de progesterona antes de la ovulación suprimen la frecuencia de pulsos de LH, lo cual puede afectar a la maduración del oocito, al crecimiento folicular y a la producción de estradiol (Bó *et al.*, 2003). Además, la probabilidad de concepción se asocia positivamente con la concentración sérica de progesterona a los 7 días de la IATF (Martins *et al.*, 2014). Los autores también encontraron un mayor diámetro del folículo en el momento de la IATF, mayores tasas de ovulación, y mayores tasas de detección de estro entre la interrupción del CIDR (día 9) y la IATF en novillas que fueron tratadas con bajos niveles de progesterona comparados con aquellos tratados con altos niveles de progesterona durante el protocolo del estro. Además, las vacas que fueron inducidas ovularon un folículo más grande y tenían una mayor concentración sérica de progesterona después de la IA (Perry *et al.*, 2007).

Se ha visto que las altas concentraciones de progesterona durante los protocolos hormonales tienen un efecto negativo sobre el crecimiento del folículo, disminuyendo el nivel de estradiol pre-ovulatorio, y la progesterona post-ovulatoria, específicamente en vaquillas Nelore. Además, como se mencionó anteriormente, se ha determinado que las concentraciones altas de progesterona antes de la ovulación suprimen la frecuencia de pulsos de LH, lo cual puede afectar a la maduración del oocito, al crecimiento folicular y a la producción de estradiol (Bó *et al.*, 2003). Estudios recientes sugieren que la LH puede afectar la expresión de los receptores de LH en las células de la granulosa, teniendo, así, un efecto directo en la fertilidad (Luo *et al.*, 2011). Los datos preliminares de Dias *et al.* (2014) encuentran que las altas concentraciones de progesterona durante el periodo sincronizado disminuyen la expresión del receptor de LH en las células de la granulosa del folículo dominante en vaquillas

Nelore. Se necesitan investigaciones futuras para confirmar estas observaciones; sin embargo, parece que el hecho de que la progesterona lleva a cambios en la pulsatilidad del LH podría ser uno de los principales impulsores de la fertilidad en estos protocolos IATF.

Mientras que las altas concentraciones de progesterona durante un protocolo de sincronización se han asociado con la supresión de la fertilidad, cuando se utilizan después de la IATF puede tener efectos positivos sobre la fertilidad incluido un aumento de las tasas de gestación. Tradicionalmente, se ha utilizado el acetato de melengestrol (MGA; una progestina sintética) principalmente para la supresión del estro para mejorar la ganancia de peso en los corrales de engorde de las vaquillas (Bloss *et al.*, 1966). Más recientemente, sin embargo, un estudio realizado en Brasil descubrió que con la administración de 0,5 mg de MGA desde el día 13 al 18 después de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas Nelore multíparas se pudo aumentar significativamente las tasas de gestación en comparación con las vacas en el grupo de control (Costa Junior *et al.*, 2017). Sá Filho *et al.* (2014) también informó de mayores tasas de gestación ($P<0,01$) entre vaquillas Nelore en ciclo que fueron tratadas con MGA (0,5 mg/vaca entre los días -14 y -1) y con cipionato de estradiol (2,0 mg intramuscular el día -9) comparados con las vacas del grupo de control a los días 10 y 30 de la temporada de cría. Tomados en su conjunto, la suplementación con MGA podría ser un instrumento útil para mejorar las tasas de gestación en las vacas Nelore. No obstante, se justifica la necesidad de investigaciones adicionales para ampliar la literatura limitada para determinar la definitiva conexión entre la suplementación de MGA y el aumento de las tasas de gestación.

CONCLUSIÓN

Se ha visto que el desarrollo de un programa de gestión reproductivo que incorpora la sincronización del estro, el diagnóstico de la gestación, sistemas de puntuación del tracto reproductor, y/o la suplementación con MGA es una manera eficaz para que los productores puedan identificar con precisión, antes de que la palpación transrectal esté disponible, qué vacas están disponibles para tomar decisiones de gestión tales como si hay que resincronizar o no, o si hay que sacrificar selectivamente, miembros del hato, y poder disminuir la mortalidad embrionaria tardía, aumentar las tasas de gestación, e identificar a las madres y padres menos fértiles.

BIBLIOGRAFÍA

- Allrich, R. 1994. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. Journal of Dairy Science 77(9):2738-2744.
- Atkins, J., M. Smith, K. Wells, and T. Geary. 2010. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. Journal of animal science 88(7):2300-2310.
- Baez, G. M., R. V. Barletta, J. N. Guenther, J. M. Gaska, and M. C. Wiltbank. 2016. Effect of uterine size on fertility of lactating dairy cows. Theriogenology 85(8):1357-1366.
- Bloss, R., J. Northam, L. Smith, and R. Zimbelman. 1966. Effects of oral melengestrol acetate on the performance of feedlot cattle. Journal of Animal Science 25(4):1048-1053.
- Bó, G., P. Baruselli, and M. Martınez. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Animal Reproduction Science 78(3):307-326.
- Chenault, J., W. Thatcher, P. Kalra, R. Abrams, and C. Wilcox. 1975. Transitory Changes in Plasma Progestins, Estradiol, and Luteinizing Hormone Approaching Ovulation in the Bovine1, 2. Journal of dairy science 58(5):709-717.
- Crisman, R., L. McDonald, and C. Wallace. 1980a. Oviduct (uterine tube) transport of ova in the cow. American journal of veterinary research 41(4):645-647.
- Crisman, R. O., L. E. McDonald, and F. N. Thompson. 1980b. Effects of progesterone or estradiol on uterine tubal transport of ova in the cow. Theriogenology 13(2):141-154.
- Dias, H., J. Albuquerque, A. Castilho, and J. Vasconcelos. 2014. High progesterone concentration has a negative effect on the expression of LH receptors in granulosa cells from Nelore heifers. Animal Reproduction 11(3):366-366.
- Dahlen, C., J. Larson, and G. C. Lamb. 2014. Impacts of reproductive technologies on beef production in the United States, Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production. Springer. p. 97-114.
- de Sousa, N. M., M. Zongo, W. Pitala, H. Boly, L. Sawadogo, M. Sanon, J. R. de Figueiredo, P. B. D. Gonçalves, B. El Amiri, and Z. Perènyi. 2003. Pregnancy-associated glycoprotein concentrations during pregnancy and the postpartum period in Azawak Zebu cattle. Theriogenology 59(5):1131-1142.
- Ferraz, J., J. Eler, and F. Rezende. 2012. Impact of using artificial insemination on the multiplication of high genetic merit beef cattle in Brazil. Anim. reprod:133-138.
- Franco, G. A., Peres, R. F. G., Martins, C. F. G., Reese, S. T., Vasconcelos, J. L. M., & Pohler, K. G. 2018. Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows. Journal of animal science, 96(2), 632-640.
- Ginther, O., D. Bergfelt, L. Kulick, and K. Kot. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. Biology of reproduction 63(2):383-389.
- Green, J. A., T. E. Parks, M. P. Avalle, B. P. Telugu, A. L. McLain, A. J. Peterson, W. McMillan, N. Mathialagan, R. R. Hook, and S. Xie. 2005. The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. Theriogenology 63(5):1481-1503.
- Gong, J., T. Bramley, C. Gutierrez, A. Peters, and R. Webb. 1995. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. Journal of reproduction and fertility 105(2):263-270.
- Jinks, E., M. Smith, J. Atkins, K. Pohler, G. Perry, M. MacNeil, A. Roberts, R. Waterman, L. Alexander, and T. Geary. 2013. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. Journal of animal science 91(3):1176-1185.
- Junior, W. C., R. Cooke, M. Pereira, and J. Vasconcelos. 2017. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy rates of Bos indicus beef cows. Livestock Science
- Karen, A., N. M. De Sousa, J.-F. Beckers, Á. C. Bajcsy, J. Tibold, I. Mádl, and O. Szenci. 2015. Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Animal reproduction science 159:31-37.

- Lobago, F., M. Bekana, H. Gustafsson, J.-F. Beckers, G. Yohannes, Y. Aster, and H. Kindahl. 2009. Serum Profiles of Pregnancy‐Associated Glycoprotein, Oestrone Sulphate and Progesterone During Gestation and Some Factors Influencing the Profiles in Ethiopian Borana and Crossbred Cattle. Reproduction in domestic animals 44(4):685-692.
- Luo, W., A. Gumen, J. M. Haughian, and M. C. Wiltbank. 2011. The role of luteinizing hormone in regulating gene expression during selection of a dominant follicle in cattle. Biology of reproduction 84(2):369-378.
- Martins, T., R. Peres, A. Rodrigues, K. Pohler, M. Pereira, M. Day, and J. L. M. Vasconcelos. 2014. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nellore heifers. Theriogenology 81(3):446-453.
- Pancarci, S., E. Jordan, C. Risco, M. Schouten, F. Lopes, F. Moreira, and W. Thatcher. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. Journal of dairy science 85(1):122-131.
- Patel, O. V., O. Yamada, K. Kizaki, T. Takahashi, K. Imai, and K. Hashizume. 2004. Quantitative analysis throughout pregnancy of placentomal and interplacentomal expression of pregnancy‐associated glycoproteins‐1 and‐9 in the cow. Molecular reproduction and development 67(3):257-263.
- Pereira, M., M. Wiltbank, and J. Vasconcelos. 2016. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. Journal of dairy science 99(3):2237-2247.
- Perry, G., and B. Perry. 2008a. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. Domestic animal endocrinology 34(3):333-338.
- Perry, G., and B. Perry. 2008b. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time artificial insemination protocol. Journal of animal science 86(11):2928-2935.
- Perry, G., M. Smith, A. Roberts, M. MacNeil, and T. Geary. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. Journal of animal science 85(3):684-689.
- Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success.
- Pohler, K. G., T. W. Geary, C. L. Johnson, J. A. Atkins, E. M. Jinks, D. C. Busch, J. A. Green, M. D. MacNeil, and M. F. Smith. 2013. Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows. J Anim Sci 91(9):4158-4167. doi: 10.2527/jas.2013-6348
- Pohler, K., R. Peres, J. Green, H. Graff, T. Martins, J. Vasconcelos, and M. Smith. 2016. Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. Theriogenology 85(9):1652-1659.
- Roper, D. A. 2014. Characterization of the Reproductive Tract in Recipients for Bovine Embryo Transfer: pH and Bacterial Presence.
- Sá Filho, O., D. Patterson, and J. L. M. Vasconcelos. 2014. Development of estrous synchronization protocols using melengestrol acetate in cattle. Journal of animal science 87(6):1981-1990.
- Santos, R., and J. Vasconcelos. 2010. Estratégias para reduzir perdas embrionárias. 1.
- Sasser, G. R., C. A. Ruder, K. A. Ivani, J. E. Butler, and W. C. Hamilton. 1986. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. Biology of Reproduction 35(4):936-942.
- Savio, J., W. Thatcher, L. Badinga, R. De la Sota, and D. Wolfenson. 1993. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. Journal of reproduction and fertility 97(1):197-203.
- Sousa, N., A. Ayad, J. Beckers, and Z. Gajewski. 2006. Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants. J Physiol Pharmacol 57(Suppl 8):153-171.
- Souza, A., A. Gümen, E. Silva, A. Cunha, J. Guenther, C. Peto, D. Caraviello, and M. Wiltbank. 2007. Supplementation with estradiol-17ć before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. Journal of dairy science 90(10):4623-4634.
- Szenci, O., J.-F. Beckers, P. Humblot, J. Sulon, G. Sasser, M. Taverne, J. Varga, R. Baltusen, and G. Schekk. 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology 50(1):77-88.
- Wallace, R. M., K. G. Pohler, M. F. Smith, and J. A. Green. 2015. Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. Reproduction 149(3):R115-R126.
- Walters, D., and E. Schallenberger. 1984. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. Journal of reproduction and fertility 71(2):503-512.
- Young, C., F. Schrick, K. Pohler, A. Saxton, F. Di Croce, D. Roper, J. Wilkerson, and J. Edwards. 2017. A reproductive tract scoring system to manage fertility in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science
- Zoli, A. P., L. A. Guilbault, P. Delahaut, W. B. Ortiz, and J.-F. Beckers. 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. Biology of Reproduction 46(1):83-92.

ENGLISH VERSION

Managing pregnancy loss in a beef herd

Pohler, K.G., Speckhart, S.L., Reese, S.T., Dantas F.G., Franco, G.A., Ault, T.B., Oliveira Filho, R. V., Maia, T. S., Santos, A. P. O., and Atabay, E.C.

Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX

Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville, TN

Philippine Carabao Center, CLSU, Science City of Munoz, Nueva Ecija, Philippines

KEY POINTS

- Pregnancy diagnosis using PAGs is an efficient method that is based on detecting the presence of a pregnancy-specific protein and is commercially available in both blood and milk, which enables the detection of nonpregnant cows earlier than rectal palpation after insemination or embryo transfer
- Sire selection can influence concentration of PAGs in the maternal circulation
- Estrus expression at FTAI and FTET increases pregnancy rates and decreases late embryonic mortality
- Reproductive tract size and position score can be used to identify less fertile females in the herd
- MGA can be utilized d13-18 post TAI to increase pregnancy rates in *Bos indicus* cows

INTRODUCTION

Reproductive failure is one of the most substantial barriers to profitability in beef herds. Management issues, cow infertility, bull infertility, heat stress, and embryonic mortality are all contributing factors to reproductive inefficiency. The Brazilian beef herd has over 70 million cows and embryonic mortality represents a loss of almost 4 billion reais per year (Santos and Vasconcelos, 2010). Brazil has been at the forefront of reproductive technology adoption, including fixed-time artificial insemination (FTAI), estrus synchronization (ES), in vitro embryo production (IVP), pregnancy testing, and chemical based pregnancy testing (PAGs), in order to increase genetic progress of the national beef herd. Brazilian semen sales of beef sires increased from 3.3 million units in 1993 to 11.9 million units in 2011 (Dahlen *et al.*, 2014). Between 11-12% of the total beef herd is inseminated through artificial insemination (AI) which equates to ~5.5 million cows; this is the largest proportion in the world (Ferraz *et al.*, 2012). Although these technologies have numerous benefits, producers must dedicate time and labor resources to successfully implement them. Traditional estrus detection protocols require monitoring twice daily for extended periods of time and excludes animals that do not show estrus from insemination. FTAI and ES protocols designed to be applied in timed synchronization have been used with similar results to that of estrus detection AI with less input. Subsequently, the adoption of FTAI protocols has increased among producers. The question is: "How can we as producers further increase pregnancy rates to a single insemination or increase reproductive efficiency?" The answer to that question is not so easily resolved and it has prompted further investigations of how to increase dominant follicle maturity, increase oocyte competence, improve the uterine environment, and promote placental health to name a few. Our group has chosen to explore the use of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) as a chemical based pregnancy test to increase reproductive efficiency in cattle and to decrease pregnancy loss.

Use of PAGs detected in maternal circulation as a tool in reproductive management in cattle

Pregnancy-associated glycoproteins were identified by researchers looking for a pregnancy specific marker that could be used for pregnancy diagnosis in cattle. While PAGs have proven to be a reliable marker for pregnancy, its physiological role is still unknown. Although, it has been hypothesized that PAGs may help process growth factors found at the placental-uterine interface or assist with adhesion actions between the uterus and placenta (Wallace *et al.*, 2015). Produced by binucleate trophoblast cells of the placenta, PAGs enter the maternal circulation as early as day 21 of gestation and reach levels currently acceptable for accurate pregnancy diagnosis at day 28. Circulating concentrations of PAGs can be influenced by a number of factors including breed, weight, parity, sire, fetal sex, and fetal number, along with pregnancy stage and status (Patel *et al.*, 2004; Lobago *et al.* 2009).

Pregnancy specific protein B (PSPB) or PAG-1 was the first identified member of the PAG family, which encompass more than 20 individual proteins and two dozen genes. The discovery of PAG-1 led to the development of a radioimmunoassay (RIA) for PAG detection. The validating study concluded that PAGs were secreted into the maternal system and were unique to pregnant animals. Some commercial PAG based pregnancy diagnostic tests still utilize PAG-1 as a target PAG. A study by Green *et al.* (2005) validated an ELISA that specifically targeted PAGs secreted early in gestation that had a shorter half-life (4.3 days vs 8.4 days) than the previous targets to reduce the potential for false positives in postpartum cows (Zoli *et al.*, 1992; N. M. de Sousa *et al.*, 2003; Green *et al.*, 2005). The ELISA was demonstrated to detect pregnant or nonpregnant cows via PAGs at day 28 post insemination. Studies comparing the efficacy of the PAG ELISA, PAG RIA, and transrectal ultrasonography revealed comparable results for the diagnosis of pregnancy in cattle at day 28 of gestation (DG28), although some differences were identified in the ability of certain assays to detect non-pregnant animals (Szenci *et al.*, 1998; Karen *et al.*, 2015). Today, commercial PAG testing is extremely accurate providing 98 to 99% true positive (pregnant) reading and false positive (reported as pregnant but actual non-pregnant) rates from 1-5%; however, some false positives may be due to embryonic mortality. Despite this, in a study using lactating dairy cows, investigators were able to determine (with 95% accuracy) which cows would undergo embryonic mortality or sustain pregnancy based on concentrations of PAGs at day 31 of gestation (Pohler *et al.*, 2016). Cows that had a concentration of greater than 7.9 ng/mL are deemed those that will sustain pregnancy, whereas a concentration of less than 1.4 ng/mL will experience embryonic mortality. It is important to be aware that commercial PAG testing simply gives a 'yes' or 'no' to determine pregnancy on the day the sample was obtained, it does not take into account which females may experience embryonic mortality after the blood or milk sample was collected. Tests currently available include BioPRYN (BioTracking LLC. Moscow, ID USA), IDEXX Bovine pregnancy test (IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, ME USA) and DG29 pregnancy test (Genex Cooperative Inc. Shawano, WI USA). BioPRYN accepts blood samples from heifers 25 days post breeding and cows 28 days post breeding, IDEXX recommends day 28 blood or milk samples and DG29 has been validated using day 29 blood samples.

Estrus Detection as a reproductive management tool in cattle

Multiple studies in different breeds of cattle and environments have demonstrated an increase in estradiol associated with estrus has a direct correlation with increased fertilization and pregnancy rates. Pre-ovulatory estradiol coordinates several physiological processes that contribute to the establishment and maintenance of pregnancy. Increased circulating estradiol levels have shown to be positively correlated with follicle size (Atkins *et al.*, 2014), which has resulted in great fertility to FTAI. Cows exhibiting estrus within 24 hours of TAI have also been reported to increase pregnancy rates (Perry *et al.*, 2005; Perry *et al.*, 2007). Increased levels of estradiol have a positive effect on preparation of follicular cells' ability to luteinize and secrete progesterone.

Increasing circulating concentrations of estradiol may also facilitate fertilization through more efficient transport of the ova and sperm (Crisman *et al.*, 1980a; Crisman *et al.*, 1980b). A potential explanation of how estradiol affects sperm transport is through altering uterine pH around the time of estrus. In studies by Perry and Perry (2008a; 2008b), cows in estrus or supplemented with estradiol had increased concentrations of estradiol and decreased uterine pH compared to cows that did not exhibit estrus (pH 6.7 vs. 7.0, respectively). In addition, work from Roper *et al.* (2014), has provided data that indicates uterine and vaginal pH at the time of AI or ET has a positive correlation with pregnancy success. Serum concentrations of estradiol prior to the LH surge and ovulation appear to regulate changes in the uterine environment in cattle. Circulating concentrations of estradiol have been shown to peak around 36 hours before ovulation (Chenault *et al.*, 1975) and these increases in pre-ovulatory estradiol have been reported by multiple groups to increase pregnancy success. Jinks *et al.* (2013), reported donor cows with greater circulating concentrations of estradiol were more likely to yield an embryo than an unfertilized oocyte. In the same study, recipient cows with greater estradiol at day 0 also had increased pregnancy establishment (Jinks *et al.*, 2013). In addition, when estradiol concentrations at day 0 were <8.4 pg/mL a decrease in pregnancy was observed.

There has been increasing literature supporting the notion that the presence of estrus at time of AI or embryo transfer (ET) shows a direct correlation with decreased embryonic mortality (Pancarci *et al.*, 2002, Souza *et al.*, 2007, Pereira *et al.*, 2016). In a recent study by Pereira *et al.* (2016), they found that estrus at time of AI increased the percentage of pregnancy rates and decreased the percentage of pregnancy loss in lactating dairy cows. The results demonstrated in cows that underwent FTAI and exhibited estrus had higher pregnancy rates on day 32 and 60 of gestation compared to cows that did not exhibit estrus. Additionally, pregnancy loss from day 32 till day 60 significantly decreased in FTAI cows that exhibited estrus (14.4%) compared to cows that did not exhibit estrus (20.1%). Similarly, cows that were subject to fixed-time embryo transfer (FTET) demonstrated parallel results to those of FTAI. Collectively, the results indicate estrus expression at time of FTAI and prior to FTET is positively associated with an increase in pregnancy rates and a decrease in late embryonic mortality.

In a study of postpartum primiparous Nelore cows by Pohler *et al.* (2016), an Estrotect heat detector patch scoring system was established to determine a correlation of estrus at time of FTAI with concentration of PAGs secreted on day 28 of gestation. Patch scores ranged from 0 to 4 and increased in score as patch activation increased. For example, a patch score of 0 signified a lost patch; a score of 1 signified <25% activation; a score of 2 signified <50% activation; a score of 3 signified <75% activation; and a score of 4 signified >75% activation. The results indicated that as patch scores increased, the concentration of PAGs at day 28 also significantly increased (Figure 1). Therefore, using Estrotect heat detector patches in a herd can serve as an inexpensive identifier of cows with possible decreased fertility or increased likelihood of taking to AI.

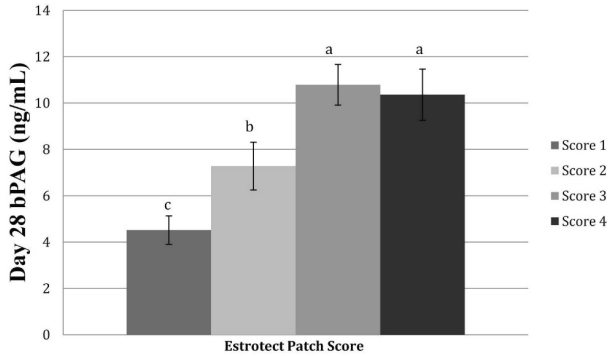


Figure 1. Correlation of estrus at FTAI and concentrations of PAGs at day 28 of gestation. (Adapted from Pohler *et al.* 2016)

It is clear that estradiol plays a critical role in the establishment and maintenance of pregnancy; however, the exact role still remains unclear. Previous literature seems to primarily point to estradiol's ability to improve the maternal environment in the reproductive system; although correlations with follicle size and embryo quality cannot be discounted. Overall, increasing preovulatory estradiol or increasing the proportion of females exhibiting estrus leads to increased pregnancy success. Thus increasing the preovulatory estradiol and estrus expression in a breeding program could help improve fertility rates in a cattle herd and reduce reproductive losses.

Reproductive tract scoring system as a reproductive management tool in cattle

Previous literature utilizing ultrasound in lactating dairy cows has reported that increased uterine size is correlated with decreased fertility (Baez *et al.*, 2016). Implementing a reproductive tract size and position score developed by Young *et al.* (2017) can easily identify, through rectal palpation, less fertile females within the herd. There are three reproductive tract size classifications including small, medium, and large, which are designated by SPS1, SPS2, and SPS3, respectively (Figure 2). Cows designated SPS1 had small uterine horns that lied within the pelvic cavity, cows designated SPS2 had intermediate uterine horns that lied partially inside the pelvic cavity, and cows designated SPS3 had large uterine horns that lied mainly outside of the pelvic cavity. As expected, the authors found that parity effects tract size and position scores (Figure 3A). As parity increased, the number of SPS1 cows decreased, whereas the number of SPS2 and SPS3 cows increased. In lactating dairy cows, there was a significant increase in pregnancy rates among cows as SPS scores decreased (Figure 3B). Adapting a reproductive tract size and position scoring system can be a useful tool to help producers in managing the fertility of their females.

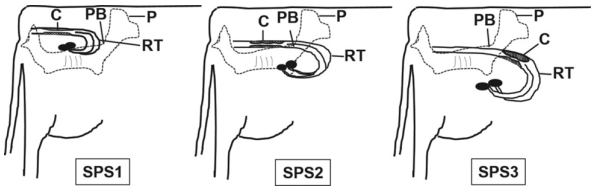


Figure 2. Reproductive tract size and position score system. (Adapted from Young *et al.* 2017)

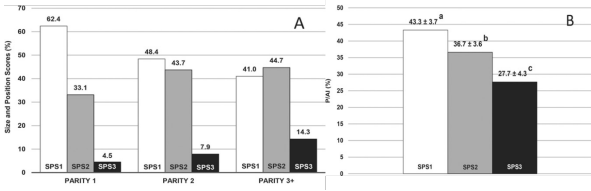


Figure 3. (A) Influence of parity on SPS. (B) Pregnancy/AI for each SPS score. (Adapted from Young *et al.* 2017).

MGA supplementation can increase pregnancy success

During the luteal phase of a cow's estrous cycle, progesterone is the predominant hormone that regulates the secretion of gonadotropin releasing hormone (GnRH) from the hypothalamus. GnRH regulates the secretion of gonadotropins (FSH and LH) from the anterior pituitary. FSH is responsible for follicular recruitment, whereas LH leads to the final stages of follicular growth, oocyte maturation, and it promotes the production and secretion of estradiol from the dominant follicle (Ginther *et al.*, 2000; Gong *et al.*, 1995; Savio *et al.*, 1993; Walters *et al.*, 1984). Progesterone concentrations prior to ovulation have been found to suppress LH pulse frequency, which can affect oocyte maturation, follicular growth, and estradiol production (Bó *et al.*, 2003). Furthermore, the probability of conception is positively associated with serum concentration of progesterone 7 days after FTAI (Martins *et al.*, 2014). The authors also reported greater follicle diameter at FTAI, increased ovulation rates, and higher estrus detection rates between CIDR removal (day 9) and FTAI in heifers that were treated with low progesterone when compared to those treated with high progesterone during the estrus protocol. Moreover, cows that were induced ovulated a larger follicle and had greater serum concentration of progesterone after AI (Perry *et al.*, 2007).

High progesterone concentration during hormonal protocols has been shown to have a negative effect on follicle growth, decreasing pre-ovulatory estradiol, and post ovulatory progesterone specifically in Nelore heifers. In addition, as mentioned above, high progesterone concentrations prior to ovulation have been found to suppress LH pulse frequency, which can affect oocyte maturation, follicular growth, and estradiol production (Bó *et al.*, 2003). Recent evidence suggests that LH can impact the expression of LH receptors in the granulosa cells thus directly affecting fertility (Luo *et al.*, 2011). Preliminary data from Dias *et al.* (2014), supports high progesterone concentrations during the synchronized period does decrease LH receptor expression in the granulosa cells of the dominant follicle in Nelore heifers. Future research is needed to confirm these observations; however, it seems that progesterone leading to changes in pulsatility of LH could be a major driver of fertility in these FTAI protocols.

While high concentrations of progesterone during a synchronization protocol have been associated with suppression of fertility, when used post FTAI it can have positive effects on fertility including increased pregnancy rates. Traditionally, melengestrol acetate (MGA; a synthetic progestin) has been primarily used for the suppression of estrus to increase weight gain among feedlot heifers (Bloss *et al.*, 1966). More recently, however, a study in Brazil found that by using 0.5 mg of MGA from days 13 to 18 post fixed-time artificial insemination (FTAI) in multiparous Nelore cows was able to significantly increase pregnancy rates compared to control cows (Costa Junior *et al.*, 2017). Sá Filho *et al.* (2014), also reported higher pregnancy rates ($P<0.01$) among cycling Nelore heifers that were treated with MGA (0.5 mg/cow between days -14 and -1) and estradiol cypionate (2.0 mg intramuscular injection on day -9) compared to controls at day 10 and 30 of the breeding season. Taken together, supplementation of MGA could prove as a useful tool to improve pregnancy rates among Nelore females. However, additional research is warranted to expand the limited literature base to determine the definitive connection between MGA supplementation and increased pregnancy rates.

CONCLUSION

Developing a reproductive management program that incorporates estrus synchronization, pregnancy diagnosis, reproductive tract scoring systems, and/ or MGA supplementation demonstrates to be an effective way for producers to accurately identify, before use of transrectal palpation becomes available, which cows are open in order to make management decisions such as whether or not to resynchronize or to cull from the herd, decrease late embryonic mortality, increase pregnancy rates, and identify less fertile dams and sires.

REFERENCES

- Allrich, R. 1994. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. Journal of Dairy Science 77(9):2738-2744.
- Atkins, J., M. Smith, K. Wells, and T. Geary. 2010. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. Journal of animal science 88(7):2300-2310.
- Baez, G. M., R. V. Barletta, J. N. Guenther, J. M. Gaska, and M. C. Wiltbank. 2016. Effect of uterine size on fertility of lactating dairy cows. Theriogenology 85(8):1357-1366.
- Bloss, R., J. Northam, L. Smith, and R. Zimbelman. 1966. Effects of oral melengestrol acetate on the performance of feedlot cattle. Journal of Animal Science 25(4):1048-1053.
- Bó, G., P. Baruselli, and M. Martınez. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Animal Reproduction Science 78(3):307-326.
- Chenault, J., W. Thatcher, P. Kalra, R. Abrams, and C. Wilcox. 1975. Transitory Changes in Plasma Progestins, Estradiol, and Luteinizing Hormone Approaching Ovulation in the Bovine1, 2. Journal of dairy science 58(5):709-717.
- Crisman, R., L. McDonald, and C. Wallace. 1980a. Oviduct (uterine tube) transport of ova in the cow. American journal of veterinary research 41(4):645-647.
- Crisman, R. O., L. E. McDonald, and F. N. Thompson. 1980b. Effects of progesterone or estradiol on uterine tubal transport of ova in the cow. Theriogenology 13(2):141-154.
- Dias, H., J. Albuquerque, A. Castilho, and J. Vasconcelos. 2014. High progesterone concentration has a negative effect on the expression of LH receptors in granulosa cells from Nelore heifers. Animal Reproduction 11(3):366-366.
- Dahlen, C., J. Larson, and G. C. Lamb. 2014. Impacts of

reproductive technologies on beef production in the United States, Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production. Springer. p. 97-114.

- de Sousa, N. M., M. Zongo, W. Pitala, H. Boly, L. Sawadogo, M. Sanon, J. R. de Figueiredo, P. B. D. Gonçalves, B. El Amiri, and Z. Perènyi. 2003. Pregnancy-associated glycoprotein concentrations during pregnancy and the postpartum period in Azawak Zebu cattle. Theriogenology 59(5):1131-1142.
- Ferraz, J., J. Eler, and F. Rezende. 2012. Impact of using artificial insemination on the multiplication of high genetic merit beef cattle in Brazil. Anim. reprod:133-138.
- Franco, G. A., Peres, R. F. G., Martins, C. F. G., Reese, S. T., Vasconcelos, J. L. M., & Pohler, K. G. 2018. Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows. Journal of animal science, *96*(2), 632-640.
- Ginther, O., D. Bergfelt, L. Kulick, and K. Kot. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. Biology of reproduction 63(2):383-389.
- Green, J. A., T. E. Parks, M. P. Avalle, B. P. Telugu, A. L. McLain, A. J. Peterson, W. McMillan, N. Mathialagan, R. R. Hook, and S. Xie. 2005. The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. Theriogenology 63(5):1481-1503.
- Gong, J., T. Bramley, C. Gutierrez, A. Peters, and R. Webb. 1995. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. Journal of reproduction and fertility 105(2):263-270.
- Jinks, E., M. Smith, J. Atkins, K. Pohler, G. Perry, M. MacNeil, A. Roberts, R. Waterman, L. Alexander, and T. Geary. 2013. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. Journal of animal science 91(3):1176-1185.
- Junior, W. C., R. Cooke, M. Pereira, and J. Vasconcelos. 2017. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy rates of Bos indicus beef cows. Livestock Science
- Karen, A., N. M. De Sousa, J.-F. Beckers, Á. C. Bajcsy, J. Tibold, I. Mádl, and O. Szenci. 2015. Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Animal reproduction science 159:31-37.
- Lobago, F., M. Bekana, H. Gustafsson, J.-F. Beckers, G. Yohannes, Y. Aster, and H. Kindahl. 2009. Serum Profiles of Pregnancy‐Associated Glycoprotein, Oestrone Sulphate and Progesterone During Gestation and Some Factors Influencing the Profiles in Ethiopian Borana and Crossbred Cattle. Reproduction in domestic animals 44(4):685-692.
- Luo, W., A. Gumen, J. M. Haughian, and M. C. Wiltbank. 2011. The role of luteinizing hormone in regulating gene expression during selection of a dominant follicle in cattle. Biology of reproduction 84(2):369-378.
- Martins, T., R. Peres, A. Rodrigues, K. Pohler, M. Pereira, M. Day, and J. L. M. Vasconcelos. 2014. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nellore heifers. Theriogenology 81(3):446-453.
- Pancarci, S., E. Jordan, C. Risco, M. Schouten, F. Lopes, F. Moreira, and W. Thatcher. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. Journal of dairy science 85(1):122-131.
- Patel, O. V., O. Yamada, K. Kizaki, T. Takahashi, K. Imai, and K. Hashizume. 2004. Quantitative analysis throughout pregnancy of placentomal and interplacentomal expression of pregnancy‐associated glycoproteins‐1 and‐9 in the cow. Molecular reproduction and development 67(3):257-263.
- Pereira, M., M. Wiltbank, and J. Vasconcelos. 2016. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. Journal of dairy science 99(3):2237-2247.
- Perry, G., and B. Perry. 2008a. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. Domestic animal endocrinology 34(3):333-338.
- Perry, G., and B. Perry. 2008b. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time artificial insemination protocol. Journal of animal science 86(11):2928-2935.
- Perry, G., M. Smith, A. Roberts, M. MacNeil, and T. Geary. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. Journal of animal science 85(3):684-689.
- Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success.
- Pohler, K. G., T. W. Geary, C. L. Johnson, J. A. Atkins, E. M. Jinks, D. C. Busch, J. A. Green, M. D. MacNeil, and M. F. Smith. 2013. Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows. J Anim Sci 91(9):4158-4167. doi: 10.2527/jas.2013-6348
- Pohler, K., R. Peres, J. Green, H. Graff, T. Martins, J. Vasconcelos, and M. Smith. 2016. Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. Theriogenology 85(9):1652-1659.
- Roper, D. A. 2014. Characterization of the Reproductive Tract in Recipients for Bovine Embryo Transfer: pH and Bacterial Presence.
- Sá Filho, O., D. Patterson, and J. L. M. Vasconcelos. 2014. Development of estrous synchronization protocols using melengestrol acetate in cattle. Journal of animal science 87(6):1981-1990.
- Santos, R., and J. Vasconcelos. 2010. Estratégias para reduzir perdas embrionárias. 1.
- Sasser, G. R., C. A. Ruder, K. A. Ivani, J. E. Butler, and W. C. Hamilton. 1986. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. Biology of Reproduction 35(4):936-942.
- Savio, J., W. Thatcher, L. Badinga, R. De la Sota, and D. Wolfenson. 1993. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. Journal of reproduction and fertility 97(1):197-203.

- Sousa, N., A. Ayad, J. Beckers, and Z. Gajewski. 2006. Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants. J Physiol Pharmacol 57(Suppl 8):153-171.
- Souza, A., A. Gümen, E. Silva, A. Cunha, J. Guenther, C. Peto, D. Caraviello, and M. Wiltbank. 2007. Supplementation with estradiol-17β before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. Journal of dairy science 90(10):4623-4634.
- Szenci, O., J.-F. Beckers, P. Humblot, J. Sulon, G. Sasser, M. Taverne, J. Varga, R. Baltusen, and G. Schekk. 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology 50(1):77-88.
- Wallace, R. M., K. G. Pohler, M. F. Smith, and J. A. Green. 2015. Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy. Reproduction 149(3):R115-R126.
- Walters, D., and E. Schallenberger. 1984. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. Journal of reproduction and fertility 71(2):503-512.
- Young, C., F. Schrick, K. Pohler, A. Saxton, F. Di Croce, D. Roper, J. Wilkerson, and J. Edwards. 2017. A reproductive tract scoring system to manage fertility in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science
- Zoli, A. P., L. A. Guilbault, P. Delahaut, W. B. Ortiz, and J.-F. Beckers. 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. Biology of Reproduction 46(1):83-92.

NECROPSIA EN CAMPO: INTERPRETACIÓN DE LESIONES

Valentín Pérez

Diplomado del Colegio Europeo de Patólogos Veterinarios (ECVP).
Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria-Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Universidad de León.

La identificación de las lesiones macroscópicas, es decir, los cambios que en los tejidos y órganos de los animales se producen como consecuencia de la presencia de una enfermedad o proceso patológico, y son detectables a simple vista, es un método de gran utilidad para llegar a un correcto diagnóstico. Es cierto que muchas lesiones no son características de un único proceso, y que normalmente es necesario llevar a cabo otro tipo de estudios como el histopatológico o, sobre todo, emplear técnicas de diagnóstico etiológico, para llegar a conocer la causa definitiva de la muerte. Sin embargo, en patología veterinaria, es innegable que un buen examen de las lesiones que presenta el animal, en la mayor parte de los casos, va a proporcionar, o bien el diagnóstico definitivo, o en muchas situaciones, un diagnóstico presuntivo que al menos va a permitir la toma de medidas antes de conocer el resultado del resto de análisis. La necropsia es un procedimiento útil, barato y relativamente fácil de realizar en condiciones de campo que va a permitir identificar los órganos lesionados.

Existen varias técnicas de realización de la necropsia. Lo más recomendable, es que siempre se utilice la misma, siguiendo los mismos pasos, ya que de esta forma se van a poder detectar rápidamente anomalías en la posición de las vísceras, falta de órganos, etc. En condiciones de campo, y tratándose de animales de gran tamaño, la forma más cómoda de realizar la necropsia es con el cadáver en decúbito lateral. En cuanto a material, es indispensable un cuchillo muy bien afilado, y algún instrumento para poder abrir la caja torácica (costotomo, tijeras de podar, etc). El objetivo de esta presentación, es hacer un repaso sobre los principales cambios que se van a observar en el cadáver y dar unas claves para su interpretación.

Una vez separada la piel e inspeccionado el tejido subcutáneo (edema, hemorragias...), grupos musculares (necrosis, gangrena gaseosa...), articulaciones o nódulos linfáticos periféricos, es importante que se proceda a abrir la cavidad abdominal y posteriormente la torácica, sin extraer vísceras ni cortar el hiato diafragmático, para evitar el paso de contenido de una cavidad a otra. Además de edema (ascitis, hidrotórax) asociado a problemas circulatorios o caquexia, se puede encontrar sangre, fibrina, contenido necrótico-purulento, y restos de alimento, etc. En los nódulos linfáticos, hay que observar el aumento de tamaño, si es local o generalizado, y si se acompaña de otros fenómenos (necrosis, hemorragias, alteración de la estructura, etc.) y en las articulaciones, sobre todo la existencia de contenidos anormales (fibrina, pus...) y el estado de la cápsula articular.

Dentro de la cavidad abdominal, en el hígado, como en otros órganos parenquimatosos, hay que valorar los cambios de forma y tamaño, así como los cambios de color y su distribución (multifocal, difusa) o el aspecto a la sección. Los procesos degenerativos, frecuentemente de origen tóxico, suelen cursar con un aumento difuso de tamaño y una coloración más aclarada. La existencia de focos blanquecinos puede asociarse con necrosis (en estos casos la consistencia estaría disminuida), procesos inflamatorios normalmente causados por agentes que llegan por vía sanguínea o incluso metástasis tumorales (leucosis). Algo semejante puede observarse en el riñón. La inspección del tubo digestivo es importante. Debe prestarse atención al aspecto del contenido ruminal y su pH, y al aspecto de la mucosa (presencia de úlceras, ruminitis químicas por acidosis, etc) al igual que en el abomaso. En el intestino, además de cambios en su localización (torsiones, invaginaciones, etc) es importante valorar el contenido (exudado sero-mucoso, fibrina, hemorragias...) y el aspecto de la pared intestinal, en cuanto a su grosor (aumentos asociados a procesos crónicos) y a la existencia de úlceras, necrosis, hemorragias, etc.

El pulmón es uno de los órganos importantes en la inspección y que más cambios macroscópicos suelen presentar, aunque muchos de ellos muy inespecíficos. Destacan las alteraciones en el color y la consistencia. Las neumonías, proceso muy frecuente en la especie bovina, suelen cursar con un incremento notable de la consistencia en las zonas cráneo-ventrales en las de tipo exudativo, debido a la pérdida de aire y su sustitución por exudados inflamatorios. Además, se acompañan de una coloración más acentuada, bien con tonos rojizos-granates, en caso de procesos agudos, asociados cambios vasculares y con aumento del tamaño de la zona afectada (e. g., neumonías fibrinosas o fibrino-necróticas), o de una coloración más grisácea en las neumonías crónicas, que suelen presentar también bronquiectasias. Sin embargo, este patrón no se presenta en las neumonías intersticiales, donde la lesión es difusa. En los casos de enfisema, en la especie bovina, independientemente de la causa, se suele presentar como de tipo intersticial, con dilatación de tabiques y la formación de bullas. En este último caso, aunque es una lesión característica de algún proceso vírico, puede aparecer también de forma secundaria a otras lesiones pulmonares. Si el aumento de consistencia se presenta de forma multifocal, y en esas zonas hay contenido purulento-necrótico, es una lesión que se asocia a las neumonías embólico- metastásicas, a partir de un foco piógeno en otro punto del organismo. En el caso del corazón, hay que abrir todas las cavidades e inspeccionar las válvulas y grandes vasos, para detectar la existencia de endocarditis entre otros procesos, y previamente inspeccionar la cavidad pericárdica, donde pueden aparecer exudados de diferente tipo, incluidos los fibrino-necróticos y gangrenosos (reticulopericarditis traumática).

Es interesante llevar a cabo una inspección de la cabeza, especialmente de la cavidad oral para buscar lesiones compatibles con estomatitis (necróticas, ulcerativas, etc), que son lesiones frecuentes en la especie bovina u otro tipo de procesos, así como la zona de faringe-laringe y tráquea (presencia de exudados inflamatorios) y esófago (úlceras, línea del timpanismo, etc.). Si se puede, conviene abrir el cráneo para inspeccionar el encéfalo. En este órgano, no son muchas las afecciones que cursan con cambios macroscópicos, pero si se pueden encontrar lesiones típicas meningitis, necrosis cerebro-cortical, etc.

En conclusión, el objetivo de esta presentación es proporcionar claves para la diferenciación macroscópica de lesiones, con especial énfasis en el diagnóstico diferencial de las mismas, e intentar asociarlas a las causas generales más comunes. El plasmar todos estos aspectos en un texto escrito no proporciona toda la información necesaria, por lo que, en el congreso, se presentarán imágenes de diferentes órganos que ilustren los cambios que sufren.

CONTROL DE DOLOR DURANTE Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS PODALES GRAVES

George Stilwell

Departamento de Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Lisboa

La cojera en vacas lecheras se presenta como un problema importante de bienestar social ya sea que se evalué en términos de su estado físico (fitness) o estado mental (sufrimiento).La cojera, causada por una lesión o enfermedad en las pezuñas, es considerado uno de los más importantes problemas de bienestar a los que se tiene que enfrentar la industria láctea. Las vacas lecheras cojas experimentan: dolor y malestar; patrones alterados de descanso, alimentación y comportamiento social; fertilidad reducida; disminución de la producción de leche; y un aumento de la probabilidad de ser sacrificados. Se estima que los animales clínicamente cojos producen 360kg menos de leche que sus homólogos sanos. De manera similar, el aumento en el intervalo de parto al primer servicio y del parto a la concepción, una prolongación del intervalo entre partos, la reducción de la actividad ovárica, la reducción de la actividad de bulling[1] e índices de concepción reducidos; todos han sido asociados con la cojera clínica en las vacas lecheras. Así, la cojera puede llevar a: la infertilidad, enfermedades metabólicas, pérdida de producción y sacrificio prematuro.

El dolor agudo, pero especialmente el crónico, es el único, o al menos el factor principal, responsable de estos efectos. Incluso breves intervalos de dolor agudo puede inducir a una remodelación neuronal y sensibilización ("plasticidad") a largo plazo, dolor crónico y angustia psicológica duradera. Además de reducir sustancialmente el bienestar del animal, el dolor también prolonga el tiempo necesario para recuperarse de la afección subyacente. Es fácil de demostrar que las vacas cojas tienen umbrales nociceptivos reducidos consistentes con la hiperalgesia (hipersensibilidad al dolor), una complicación conocida que agrava el problema primario. En vacas cojas la hiperalgesia puede estar presente hasta 28 días después del tratamiento en las vacas con lesiones de pezuña. Esto demuestra que, incluso después del recorte, es probable que persista el dolor derivado de la presión del esqueleto a través de la tercera falange en una pezuña dañada o destruida. Muchos animales severamente cojos con dolor podal intratable no logran una recuperación completa, debido al desarrollo de complicaciones o cambios crónicos. Algunos pueden ser sacrificados al final de la lactancia, pero otros siguen cojos y con dolor a través de lactancias posteriores.

El dolor experimentado por el ganado cojo es a menudo enmascarado por su estoicismo instintivo, lo que retrasa la detección y el tratamiento de la cojera. Los granjeros y los veterinarios deben estar entrenados para detectar cojeras en sus inicios. Los estudios han demostrado que el comportamiento y el rendimiento y la calidad de la leche, se ven afectados semanas antes de que las vacas sean identificadas como cojas.

En el caso de la mayoría de patologías podales, el trimming (recorte) es la forma de tratamiento más importante. Sin embargo, recortar las lesiones que alcanza el corion también pueden causar o agravar el dolor. Las vacas a veces reaccionan violentamente a estos procedimientos, que incluyen la eliminación de deshechos y de tejido necrótico. Debido a que el bienestar y la seguridad del operador pueden estar en riesgo en estas ocasiones, hemos estado probando un gel tópico (Trisolfen®) que contiene lidocaína y bupivacaína. El gel se aplica sobre el corion expuesto o lesiones sangrantes, de modo que los anestésicos alcancen el tejido vivo. Ahora tenemos evidencia de que al aplicar este producto, la reacción al recorte y la cojera después del recorte es de menor grado. También hay un significativo aumento del umbral de presión (algometry). Hemos probado este fármaco tópico en vacas en proceso de secado (drying-off), pero actualmente estamos en camino de demostrar la ausencia de residuos de metabolitos en la leche, para permitir su uso en vacas lactantes.

El dolor después del recorte es también una cuestión importante. El dolor de algunas lesiones de la pezuña (por ejemplo, úlcera) se puede aliviar aplicando un bloque en el casco opuesto para quitar peso de la uña afectada y mantener el área ulcerada fuera de contacto con el estiércol. Pero la cojera dolorosa también se puede aliviar mediante el uso de anestesia tópica de acción prolongada y analgésicos sistémicos. Esto, desgraciadamente, rara vez se hace porque el dolor (erróneamente) se considera de poca importancia, y un elemento irrelevante en la recuperación.

Hemos realizado un estudio sobre el efecto del uso de un AINE (carprofren) después del recorte de pezuñas sobre el comportamiento y la producción de leche de vacas lecheras Holstein. Hemos encontrado que administrando carprofen (no hay período de retirada de la leche) justo después de recortar las pezuñas a las vacas con úlceras podales no infectadas, el aumento en la producción de leche fue más rápido en los animales tratados que en las vacas de control. Otros estudios han demostrado resultados similares con otros AINES.

Se concluye que la identificación temprana y el inicio del tratamiento son cruciales para la reducción de la prevalencia de la cojera, la gravedad y el tiempo de recuperación. También es evidente que el manejo del dolor de las vacas que reciben tratamiento para las lesiones / enfermedades podales es un enfoque ético pero también económico. El tratamiento del dolor durante el proceso de trimming (recorte) se puede hacer mediante el uso de anestésicos locales tópicos o durante los siguientes días utilizando un analgésico.

1 Se refiere a la actividad de la monta. Indica signos evidentes de celo.

ENGLISH VERSION

Ways of reducing pain during and after treating hoof lesions in dairy cows

George Stilwell

Departamento de Clínica, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa

Lameness in dairy cows presents as a major welfare problem whether assessed in terms of their physical state (fitness) or mental state (suffering). Lameness, because of injury or disease in the hoof, is considered to be one of the most important welfare problems facing the dairy industry. Lame dairy cows

experience: pain and discomfort; disturbed resting, feeding and social patterns; reduced fertility; lowered milk yields; and an increased likelihood of being culled. It is estimated that clinically lame animals produced 360kg less milk compared with their sound counterparts. Similarly, increased calving to first service and calving to conception interval, prolonged calving-to-calving interval, reduced ovarian activity, reduced bulling activity and reduced conception rates have all been associated with clinical lameness in dairy cows. So, lameness can lead to: infertility, metabolic diseases, loss of production and premature culling.

Acute but especially chronic pain is the sole, or at least the main, factor accountable for these effects. Even brief intervals of acute pain can induce long-term neuronal remodelling and sensitisation ("plasticity"), chronic pain, and lasting psychologial distress. Additionally to substantially reducing the animal's well-being, pain also prolongs the time needed to recover from the underlying condition. It is easy to demonstrated that lame cows have reduced nociceptive thresholds consistent with hyperalgesia (hypersensitivity to pain), a complication known to exacerbate the primary problem. In lame cows hyperalgesia can be present up to 28 days after treatment in cows with hoof horn lesions. This demonstrates that even after trimming, pain arising from pressure of the skeleton through the third phalanx on a damaged or destroyed sole is likely to persist. Many severely lame animals with intractable foot pain fail to make a full recovery, due to the development of complications or chronic changes. Some may be culled at the end of the lactation but others remain lame and in pain through subsequent lactations.

Pain experienced by lame cattle is often masked by their instinctive stoicism, leading to delayed detection and treatment of lameness. Farmers and vets should be trained to detect lameness at its beginning. Studies have shown that behaviour and milk yield and quality, are affected weeks before cows are identified as lame.

For most hoof horn lesions, trimming is the most important component of treatment. However, trimming lesions that reaches the corium can also cause or exacerbate pain. Cows will sometimes react violently to these procedures, which include some debris and necrotic tissue removal. Because welfare and operator safety may be at risk on these occasions, we have been testing a topical gel (Trisolfen®) that contains lidocaine and bupivacaine. The gel is applied on exposed corium or bleeding lesions so that the anaesthetics reaches live tissue. We have now evidence that by applying this product, reaction to trimming and lameness after trimming is of lesser degree. There is also a significant increase in the threshold to pressure (algometry). We have tested this topical drug on drying-off cows, but are currently on the way to demonstrate the absence of metabolites residues in milk, so as to allow for use in lactating cows.

Pain after trimming is also an important issue. Pain of some hoof lesions (e.g. sole ulcer) can be alleviated by applying a block on the counter hoof to take weight off the affected claw and keep the ulcerated area out of contact with slurry. But painful lameness can also be relieved by using long acting topical anaesthesia and systemic analgesics. This, unfortunately, is seldom done because pain is (wrongly) considered to be unimportant and an irrelevant element in recovery.

We conducted a study looking at the effect of using a NSAID (caprofren) after hoof trimming on behaviour and milk production of Holstein dairy cows. We found that by giving caprofen (no withdrawal period for milk) just after trimming to cows with simple non-infected sole ulcers, the increase in milk yield was faster in treated animals versus control cows. Other studies have shown similar results with other NSAIDs.

It is concluded that early identification and treatment initiation is crucial for the reduction of lameness prevalence, severity and recovery time. It is also evident that pain management of cows being treated for hoof lesions/diseases is an ethical but also an economic sound approach. Pain management can be done during trimming by using topical local anaesthetics or for the following days using an analgesic.

ORINA (UROVAGINA POOLERS CRÓNICA)

Richard Hopper, DVM, DACT

Facultad de Medicina Veterinaria, Mississippi State University

INTRODUCCIÓN

La urovagina está reconocida como uno de los trastornos reproductivos más comunes en la yegua. Aunque ha habido varios informes que describen la corrección quirúrgica de esta condición en la vaca [1-3] hace relativamente poco tiempo que se ha publicado un trabajo que describe los factores de riesgo, su efecto sobre el rendimiento reproductivo y la prevalencia [4]. Este trabajo reveló que, en base a la evaluación de vacas Holstein sobre un total de 344 lactancias se produjo esta condición con una prevalencia del 26,7%. La Urovagina fue identificada mediante la exploración con espéculo vaginal y fue clasificada como leve, moderada o severa en función de la cantidad de orina acumulada en la vagina. Solamente las categorías moderada o severa de la condición dieron como resultado una disminución de la fertilidad y éstas, a su vez, representaron alrededor de la mitad de los casos. Entre los factores de riesgo se encuentran la pobre condición corporal, una historia de endometritis y la mala conformación vulvar. Por lo tanto, esta condición es lo suficientemente significativa como para merecer nuestra atención e intentar corregirla. Hay varias opciones que van desde la reparación quirúrgica permanente hasta la gestión temporal. Los procedimientos descritos pueden realizarse en la vaca de pie con la utilización de la anestesia local. A menudo una epidural es adecuada, pero voy a revisar otros dos bloqueos de nervios adicionales que he encontrado útiles, antes de debatir el tratamiento.

La anestesia local

Paravertebral sacral

Indicación. Proporcionar una analgesia "semi-permanente" más prolongada después de procedimientos del tracto urogenital caudal en los que otros bloqueos locales no controlan adecuadamente el tenesmo y sin los posibles efectos secundarios negativos de la epidural "alcohólico".

Procedimiento. Teniendo en cuenta que el bloqueo de los nervios pudendo, hemorroidal medio, y hemorroidal caudal se consigue mejore mediante el bloqueo de S-3, S-4 y S-5, ya que parten de la médula espinal, lo importante son los puntos de referencia anatómicos *foraminae* ubicados lateralmente a la línea media dorsal. Debido a que el movimiento lateral aumenta la dificultad, se recomienda el uso de un brete de contención y de un tranquilizante. Una epidural caudal puede ser beneficiosa si el animal es inquieto o hipersensible. Recorte y realice una preparación quirúrgica de la piel a lo largo de la dorsal del sacro. Una vez completado, se encuentran los foramenes S-3, S-4 y S-5. Esto se logra mejor identificando primero la articulación sacro-coccygea (la más craneal de las articulaciones móviles cuando la cola se sube y se baja), a 1-2 cm a un lado de esta se encuentra el par de foramen S-5. El foramen S-4 están aproximadamente a 3-4 cm craneal, pero más lateral y el foramen S-3 es un craneal adicional de 3-4 cm. Una incisión de punción dorsal a 5-7 cm de cada foramen facilitará la introducción de una aguja de calibre 18. Cuando se entre en el anillo óseo inyectar la mezcla de 2-3 cc del alcohol o alcohol/lidocaína. Una mezcla eficaz es 1cc de lidocaína 2% y 2 cc de alcohol etílico al 95%. Esto debería reducir eficazmente el tenesmo, manteniendo la viabilidad de cola.

Bloqueo del nervio pudendo

Indicaciones. Este bloque es más comúnmente utilizado en la cirugía prepucial en el toro, pero también tiene aplicaciones para la vaca. Puede ser útil en casos de prolapso crónico en los que también se prolapsa la vejiga. También está indicado en cualquier procedimiento urogenital caudal en el cual hay tenesmo extremo y la epidural no parece suficiente.

Procedimiento. Para realizar este bloqueo, en primer lugar, prepare el área de la fosa isquiorrectal. A continuación, mediante palpación rectal, localice el foramen ciático menor. Esto está a una profundidad equivalente a una muñeca y lateral. El foramen ciático menor está formado por el ligamento sacrosisquiatico dorsalmente y el isquiático menor ventralmente. Después de la inyección intradérmica de una pequeña cantidad de lidocaína, una aguja de calibre 14 se coloca a través de la piel en la fosa isquiorrectal. Luego se pasa una aguja de calibre18 de 6 a 8 pulgadas dentro de la aguja de calibre 14 y con la orientación de la mano dentro del recto la punta de la aguja se coloca en cercana al nervio pudendo interno. Luego se inyecta de 20 a 75 cc de lidocaína. Dado que estos son nervios emparejados, intercambie las manos y lados, y repetir.

Sospecha de etiología

Aunque se han identificado factores de riesgo, una etiología específica es menos clara. Una situación común en nuestra clínica de referencia es la de la vaca donante anciana con la etiología en este caso probablemente yatrogénica, concretamente debido a repetidos tratamientos super-ovulatorios. El motivo por el que creo esto es que la mayoría de las veces estas vacas no se presentan con una rotura de uretra o lesionada o poseen cualquiera de los factores de riesgo identificados, sino que por el contrario una vagina grande en la cual el aspecto craneal cae sobre el piso de la pelvis. Esta condición, por supuesto, puede también ocurrir después de una lesión, generalmente asociada con la distocia o se manifiesta como splanchtosis de parto múltiple [5].

Opciones de Tratamiento

Desde el punto de vista de una solución más permanente, se puede utilizar uno de los procedimientos descritos para la extensión uretral en yeguas, sin embargo he usado típicamente una de tres alternativas más fáciles.

Tratamiento temporal (transferencia embrionaria- vaca donante)

En el caso de la vaca donante, una solución temporal consiste en colocar un catéter urinario (Foley™) y dejarlo en su lugar 2 días antes de la reproducción mediante la recuperación de embriones. En la salida del catéter coloque el "dedo" de un guante de cirugía de látex/examen (válvula de Heimlich). Poner pegamento o cinta de tal manera que se mantenga en el lugar y hacer una hendidura en el extremo. Esto permitirá el flujo de orina, al tiempo que evita la entrada de aire (válvula unidireccional). La presencia de un catéter urinario para este intervalo de tiempo puede ser irritante y puede ser necesario desmontarlo, limpiarlo y sustituirlo después, pero generalmente esto funciona bien para una duración corta (10-12 días) para el uso descrito.

Cierre Semi-permanente- cerclaje

Para una mayor corrección semi-permanente, una sutura circunferencial colocada en la intersección vestibulovaginal

[6], permitirá varios enjuagues de recuperación de embriones o el mantenimiento del embarazo (nota- la sutura debe ser retirada antes del parto). Para realizar este procedimiento se inmoviliza a la vaca y se usa analgesia epidural; la cola atada al lado y la vagina y el periné están preparados para la cirugía. A continuación colocar un catéter en la vejiga para prevenir la obstrucción accidental de la uretra por el patrón de sutura posterior. Introducir la mano en la vagina utilizando una aguja de un filo curvo o una aguja de Deschamps para colocar una sutura subcutánea craneal en el orificio uretral. La aguja se introduce primero en la posición de las 4:00 y sale a las 8:00. A continuación, vuelva a introducir la aguja a las 10:00 y sale en la posición de las 2:00. Apretar la sutura y atar. Debes permitir un diámetro de 3-6 cm (2 dedos) y esta es una amplia abertura para el paso de una pipeta de IA o un catéter ET, pero no para la reproducción natural.

Vaginoplastia Minchev

Otra opción que puede emplearse es la utilización del sistema Minchev [5] o una modificación con Johnson Pins ™). Este procedimiento se realiza exactamente igual que cuando se utilizan para la retención cervico-vaginal o prolapso vaginal. Es efectivo para la resolución de la acumulación de orina porque tiene el efecto de levantar la vagina y tirar de ella caudalmente. Esto facilita normalmente el paso de la orina.

BIBLIOGRAFÍA

1) Hopper R: Surgical correction of abnormalities of genital organs of cows. In: Youngquist & Threlfall, editors. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2nd ed. St Louis: WB Saunders; 2007. P.463-472.
2) Hudson R: Genital surgery of the cow. In Morrow, editor. Current Therapy in Theriogenology 2. Philadelphia: WB Saunders; 1986. P.341-352.
3) Fubini S: surgery of the perineum. In: Fubini & Duscharme, editors. Farm Animal Surgery. St. Louis: WB Saunders; 2004. P.399-403.
4) Gautam G, Nakao T: Prevalence of urovagina and its effects on reproductive performance in Holstein cows. Theriogenology 2009;71:1451-1461.
5) Hopper R: Surgery to restore fertility. In: Hopper, editor. Bovine Reproduction. Wiley-Blackwell. 2014. P.471-479
6) González-Martín J, Astiz S, Elvira L, Lopez-Gatius F: New surgical technique to correct urovagina improves the fertility of dairy cows. Theriogenology 2008;69:360-365.

ENGLISH VERSION

Chronic urine poolers (UROVAGINA)

Richard Hopper, DVM, DACT

College of Veterinary Medicine, Mississippi State University

INTRODUCTION

Urovagina is recognized as one of the most common reproductive disorders in the mare. Although there have been various reports that describe surgical correction of this condition in the cow [1-3] only relatively recently has work been published that describes risk factors, its effect on reproductive performance, and prevalence [4]. This work revealed that based on the evaluation of Holstein cows over a total 344 lactations this condition occurred at a prevalence of 26.7%. Urovagina was identified by vaginal speculum examination and classified as mild, moderate, or severe based on the amount of urine pooled within the vagina. Only moderate or severe categories of the condition resulted in a decrease in fertility and these in turn represented about half of the cases. Risk factors included poor body condition, a history of endometritis, and poor vulvar conformation. Therefore, this condition is of significant enough to be worthy of our attention and attempts at correction. There are several different options ranging from permanent surgical repair to temporary management. The procedures described can be performed on the standing cow with the utilization of regional anesthesia. Often an epidural is adequate, but I will review two additional nerve blocks that I have found useful, prior to discussing management.

Regional anesthesia

Sacral paravertebral

I*ndication*. To provide longer "semi-permanent" analgesia following caudal urogenital tract procedures in which other regional blocks do not adequately control tenesmus and without the potential negative side effects of the "alcohol" epidural.

Procedure. Since blocking the pudendal, middle hemorrhoidal, and caudal hemorrhoidal nerves is most easily facilitated by blocking S-3, S-4, and S-5 as they branch off the spinal cord, the important anatomical landmarks are the foraminae that are located lateral to the dorsal midline. Because lateral movement increases the difficulty, squeeze chute restraint and tranquilization is recommended. A caudal epidural may be beneficial in the flighty or hypersensitive individual. Clip and perform a surgical prep of the skin over the dorsal sacrum. This completed, the S-3, S-4, and S-5 foraminae are located. This is best accomplished by first identifying the sacral-coccygeal joint (the most cranial of the joints movable when the tail is raised and lowered), 1-2 cm lateral to this are the paired S-5 foramina. The S-4 foramina are about 3-4cm cranial, but more lateral and the S-3 foramina are an additional 3-4cm cranial. A stab incision dorsal to each foramina will facilitate the introduction a 5-7cm, 18 gauge needle. When the osseous ring is entered inject the 2-3 cc of the alcohol or alcohol/lidocaine mixture. An effective mixture is 1cc of 2% lidocaine and 2cc of 95% ethyl alcohol. This should effectively decrease tenesmus, while maintaining tail viability.

Pudendal Nerve block

Indications. This block is most commonly used in preputial surgery in the bull, but has applications for the cow as well. It can be helpful in chronic prolapse cases in which the bladder is also prolapsed. It is also indicated in any caudal urogenital procedure in which there is extreme tenesmus and an epidural does not seem adequate.

Procedure. To perform this block, first prep the area of the ischiorectal fossa. Then by rectal palpation locate the lesser sciatic foramen. This is wrist deep and lateral. The lesser sciatic foramen is formed by the sacrosciatic ligament dorsally and the lesser sciatic notch ventrally. Following the intradermal injection of a small amount of lidocaine, a 14-gauge needle is placed through the skin in the ischiorectal fossa. Then a 6 to 8 inch 18-gauge needle is passed within the 14-gauge needle and with guidance from the hand within the rectum the tip of the needle is placed in close approximation to the internal pudendal nerve. Then 20 to 75 cc of lidocaine is injected. Since these are paired nerves, swap hands and sides and repeat.

Suspected etiology

Although risk factors have been identified, a specific etiology is less clear. A common case presentation at our referral clinic is that of the aged donor cow with the etiology in this case likely to be iatrogenic, specifically due to repeated super-ovulatory treatments. The reason I believe this, is that most of the time these cows do not present with a torn or injured urethra or possessing any of the identified risk factors, but instead a large

vagina in which the cranial aspect falls over the floor of the pelvis. This condition of course can also occurs following injury, usually associated with dystocia or is manifest as splanchtosis from multiple calving's [5].

Management options

From the standpoint of a more permanent solution one of the urethral extension procedures described for the mare can be utilized, however I have typically employed one of three easier alternatives.

Temporary management (Embryo transfer- donor cow)

In the case of the donor cow, a temporary solution is to place a urinary catheter (Foley™) and leave in place 2 days prior to breeding through embryo recovery. At the egress of the catheter place the "finger" from a latex surgery/exam glove (Heimlich valve). Tape or glue it so that it will stay in place and make a slit in the end. This will allow the outflow of urine, while preventing the inflow of air (one-way valve). The presence of a urinary catheter for this length of time may become irritating and may need to be removed, cleaned and then replaced, but generally this works well for the short duration (10-12 days) for the use described.

Semi-permanent- cerclage closure

For a longer semi-permanent correction, a circumferential suture placed in the vestibulovaginal junction [6], will allow several embryo recovery flushes or the maintenance of pregnancy (note- the suture should be removed prior to parturition). To accomplish this procedure the cow is restrained, epidural analgesia employed; the tail tied to the side and the vagina and perineum are prepared for surgery. Next place a catheter into the bladder to prevent the inadvertent restriction of the urethra by the subsequent suture pattern. Introduce your hand into the vagina utilizing either a hand held curved cutting edge needle or a Deschamps needle to place a subcutaneous suture cranial to the urethral orifice. The needle is first introduced at the 4:00 position and exits at the 8:00 position. Then re-introduce the needle at 10:00 and come out at the 2:00 position. Tighten the suture and tie. You will want to allow a diameter of 3-6cm (2 fingers) and this is ample opening for passage of an AI pipette or ET catheter, but NOT natural breeding.

Minchev vaginoplasty

Another option that can be employed is the utilization of the Minchev [5] or a modification using the Johnson Pins™). This procedure is performed exactly as it is when utilized for vaginal or cervico-vaginal prolapse retention. It is effective for the resolution of urine pooling because it has the effect of both raising the vagina and pulling it caudally. This typically facilitates urine passage.

REFERENCES

1) Hopper R: Surgical correction of abnormalities of genital organs of cows. In: Youngquist & Threlfall, editors. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2nd ed. St Louis: WB Saunders; 2007. P.463-472.
2) Hudson R: Genital surgery of the cow. In Morrow, editor. Current Therapy in Theriogenology 2. Philadelphia: WB Saunders; 1986. P.341-352.
3) Fubini S: surgery of the perineum. In: Fubini & Duscharme, editors. Farm Animal Surgery. St. Louis: WB Saunders; 2004. P.399-403.
4) Gautam G, Nakao T: Prevalence of urovagina and its effects on reproductive performance in Holstein cows. Theriogenology 2009;71:1451-1461.
5) Hopper R: Surgery to restore fertility. In: Hopper, editor. Bovine Reproduction. Wiley-Blackwell. 2014. P.471-479
6) González-Martín J, Astiz S, Elvira L, Lopez-Gatius F: New surgical technique to correct urovagina improves the fertility of dairy cows. Theriogenology 2008;69:360-365.

CLAVES PARA EL DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO DE PATOLOGÍAS BOVINAS HABITUALES

Valentín Pérez

Diplomado del Colegio Europeo de Patólogos Veterinarios (ECVP).
Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria-Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Universidad de León.

Como continuación de la presentación anterior, el objetivo de esta charla es mostrar qué grupos de lesiones son los más característicos de diferentes enfermedades y procesos que se presentan en el ganado bovino, con especial insistencia en lesiones que son comunes a varios de ellos, y cómo llegar a realizar el diagnóstico diferencial. En este texto, se van a intentar reflejar algunos de ellos, que serán pormenorizadamente explicados, con el apoyo de imágenes, en el momento de la presentación.

La existencia de lesiones de tipo erosivo y ulcerativo en la boca, es un hallazgo frecuente tanto en animales jóvenes como adultos. Pueden presentarse como consecuencia de acciones traumáticas (cuerpos extraños, etc) pero si tienen una distribución multifocal pueden asociarse a agentes víricos (en estos casos es típico la afección de las papilas cónicas de la cara interna de los carrillos) como por ejemplo los pestivirus (BVD en la forma de enfermedad de las mucosas) o herpesvirus (fiebre catarral maligna). En el primer caso, se acompañará de lesiones ulcerativas en el esófago, abomaso y en el intestino, con necrosis de las placas de Peyer y presencia de exudado fibrinoso, llegando a formar cilindros). Sin embargo, si se trata de fiebre catarral maligna, además de las diferencias epidemiológicas en cuanto a que afecta habitualmente a animales adultos y son casos aislados, se puede acompañar de lesiones renales (nefritis no purulenta multifocal) u oculares, además de las digestivas. Ante la presencia de úlceras en la boca y lengua, hay que considerar también los casos de uremia. En rumiantes, como consecuencia de la la existencia de niveles elevados de nitrógeno ureico y otros productos de desecho en la sangre asociada a una insuficiencia renal, se observan erosiones y úlceras, con hemorragias y presencia de fibrina incluso, en la cavidad oral junto con el esófago, pre-estómagos, abomaso y zona del ciego y colon. Se aprecia un fuerte olor a amoniaco en estos órganos, y debe inspeccionarse el riñón, ante la presencia de procesos agudos como las nefrosis (asociadas a intoxicaciones, como las producidas por taninos), que cursan con aumento de tamaño del riñón y coloración aclarada, procesos inflamatorios (pielonefritis, presencia de pus en pelvis renal sobre todo, producidas por bacterias que llegan por vía ascendente) o nefritis crónicas, que se reconocen por ser riñones de tamaño reducido, aclarados y consistencia incrementada por la fibrosis (riñón fruncido).

En el tubo digestivo son frecuentes las enteritis. En el caso de terneros, las colibacilosis suelen cursar con dilatación de asas yeyunales que presentan abundante contenido sero-mucoso. Este tipo de lesión también puede observarse en procesos víricos o en casos de criptosporidiosis. Es frecuente que animales con colibacilosis acaben muriendo como consecuencia de la septicemia que se desarrolla, y en estos casos suelen observarse poliartritis fibrinosas, especialmente en las articulaciones tarsianas, hemorragias en serosas (cardiaca, esplénica, etc), presencia de fibrina en cavidad abdominal (peritonitis fibrinosa) y en la cámara anterior del ojo. Las enteritis asociadas a *Clostridium perfringens,* en animales jóvenes, suelen tener un componente más hemorrágico, al igual que en el síndrome yeyunal hemorrágico, que se suele observar en animales adultos. En los casos de salmonelosis, la enteritis suele ser preferentemente de tipo fibrinoso, y en coccidiosis, de carácter hemorrágico, afectando en muchas ocasiones sobre todo al ciego. En cuanto a los procesos diarreicos de carácter crónico, la paratuberculosis es la principal enfermedad. Se observa un engrosamiento difuso de la pared intestinal, afectando principalmente al íleon y yeyuno, con dilatación de los vasos linfáticos de la serosa intestinal y marcada tumefacción de los nódulos linfáticos regionales. Además, en la especie bovina, es frecuente encontrar calcificaciones en la pared de la arteria aorta, y en relación con la caquexia que sufren estos animales, un enfisema intersticial difuso y atrofia serosa en los depósitos grasos.

En el pulmón, son frecuentes las neumonías en terneros. Por un lado, las neumonías exudativas agudas suelen tener un carácter fibrinoso, con el pulmón congestivo en zonas cráneo-ventrales, aumento de consistencia y pleuritis fibrinosa, o incluso focos de necrosis. Este tipo de lesión está producida por bacterias de diferentes géneros (i.e. *Mannheimia, Pasteurella, Histophilus...*). Si se trata de neumonías crónicas, se han asociado a infecciones por *Mycoplasma bovis* principalmente. En muchos casos, previamente ha habido una infección vírica que ha predispuesto a la contaminación bacteriana secundaria. En cuanto a los agentes víricos (PI3, BRSV, pestivirus...) suelen provocar neumonías de tipo bronco-intersticial principalmente, con aumento de volumen pulmonar, y en algunos casos con presencia de enfisemas llegando a formar bullas. Los herpesvirus bovinos tipo 1 (IBR) suelen provocar, además, rinitis y traqueítis de tipo fibrinoso, en los cuadros típicos. Si la neumonía es de tipo embólico-metastásica, el foco primario suele estar habitualmente en el corazón (endocarditis valvular) o en el hígado (abscesos). La tuberculosis también cursa con lesiones neumónicas, que según en qué fase de la enfermedad esté el animal, puede tener diferentes formas de presentación.

El corazón, en la especie bovina, suele ser asiento frecuente de malformaciones en animales jóvenes, entre las que destacan los defectos en la pared, con orificios interauriculares o interventriculares, o la persistencia del conducto arterio-venoso. En las válvulas, las endocarditis, con presencia de trombos en la pared valvular, suelen tener origen séptico, y es frecuente que se asocien a embolizaciones a otros órganos. En el pericardio, destacan las pericarditis traumáticas, por cuerpos extraños, con abundante contenido líquido de tipo necrótico, con fibrina. Asociado a las lesiones cardiacas, es frecuente que en el hígado se observe una congestión pasiva crónica (hígado en nuez moscada), que se manifiesta por el aspecto irregular de la superficie hepática, consistencia más firme, y a la sección, la alternancia de un color oscuro o claro, similar al aspecto de la nuez moscada. Suele acompañarse de lesiones asociadas a la hipertensión portal, con ascitis abundante.

Como se ha indicado, en este resumen solo se recogen algunas lesiones significativas, y será en la propia presentación en la sala donde se completará con cambios en otros órganos y se abordarán con más detalle procesos patológicos concretos.

CALOSTRO - RECORDAR LO CLÁSICO Y VER QUÉ HAY DE NUEVO

George Stilwell

Departamento Clínico, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Lisboa

El calostro es la primera secreción de la glándula mamaria excretada inmediatamente después del parto. Los componentes del calostro comienzan a ser producidos y transferidos a la glándula mamaria algunas semanas antes del parto por influencia hormonal, es decir, por la prolactina. Debido a que la placenta epiteliocorial bovina impide la transferencia intrauterina de moléculas grandes de la vaca al feto, el calostro es esencial para la transmisión de la inmunidad que protegerá al recién nacido contra las enfermedades infecciosas. La capacidad de respuesta inmune innata y adaptativa se desarrollará, progresivamente, desde el nacimiento hasta la pubertad.

El calostro bovino es muy rico en inmunoglobulinas (especialmente IgG) pero también en leucocitos, citocinas (por ejemplo, IL-1β, IL-6, TNF-α e IFN-γ) y varios inhibidores de bacterias (por ejemplo, la lactoferrina).Se han identificado aproximadamente 70 enzimas en el calostro bovino. También es una importante fuente de energía, proteínas, vitaminas, minerales, factores de crecimiento y otros muchos elementos que son cruciales para la salud y el desarrollo de los terneros. Es también esencial para el movimiento y liberación de meconio.

La gestión perfecta del calostro es esencial en las granjas lecheras ya que no es posible criar terneros con éxito si no hay un aporte de buen calostro a tiempo (primera comida antes de 4 horas después del nacimiento) y en cantidad suficiente (al menos 12% de peso al nacer).La calidad del calostro se asocia tradicionalmente con el nivel de inmunoglobulinas (más de 50 mg / L) que se puede medir indirectamente en la granja por varios métodos, como pueden ser densidad, color o % Brix. Debido a que se piensa que la IgG es el componente inmune más importante del calostro, la congelación ha sido aceptada como una buena forma de preservarla. Hay que decir que las reglas de congelación y descongelación (no más de 60ºC y descongelación homogénea) deben mantenerse para garantizar la máxima calidad.

Recientemente, sin embargo, se está prestando más atención al componente de células de calostro bovino, células - 1 x 10^6 a 2.5 x 10^6 de las cuales aproximadamente el 30% son viables y han sido identificados en el torrente sanguíneo y tejidos de los terneros después de su primera comida. La población de leucocitos viables en el calostro se compone de aproximadamente un 14% de neutrófilos, el 16% de linfocitos y el 70% de células grandes (monocitos/macrófagos y células epiteliales).Aunque el papel del Ig colostral en la protección del recién nacido está bien demostrado, la importancia de los leucocitos y citoquinas del calostro no ha sido completamente establecido. No obstante, la investigación ha demostrado que células derivadas del calostro fomentan el desarrollo de la función inmune innata y adaptativa en el neonato y mejoran las respuestas de los terneros a las infecciones de Escherichia coli. También se ha demostrado una mejor respuesta de los terneros a futuras vacunas.

Si la evidencia de los beneficios del componente celular se demuestra completamente, se recomendará usar calostro fresco siempre que sea posible. El calostro congelado tendrá todavía un lugar para los casos donde la represa de calostro es de muy mala calidad o no se dispone de un buen calostro fresco.

En contraste, calentar el calostro (pasteurización, 60ºC durante 60 min) parece ser beneficioso no solo como una forma de controlar enfermedades importantes del rebaño (por ejemplo, paratuberculosis y micoplasmosis), sino porque se dice que la presencia de bacterias en el calostro podría interferir con la absorción sistémica de moléculas de Ig en el intestino delgado. Sin embargo, el recalentamiento puede dañar la calidad del calostro - 63 °C durante 30 min resultó en una pérdida media de Ig de 12%.

El calostro bovino también ha demostrado tener propiedades protectoras en individuos jóvenes de otras especies (p. ej., potros y cachorros), mejorando las funciones del sistema inmunológico y reduciendo la incidencia de enfermedades. Ha demostrado tener actividad anti-inflamatoria entérica así como ser antialérgico y tener actividad antioxidante en humanos.

En conclusión, existe una creciente evidencia científica de que el papel del calostro en el establecimiento de la inmunidad del ternero no se limita a los anticuerpos transferidos, sino también a que los leucocitos transferidos de forma adoptiva pueden ser esenciales para la eliminación del patógeno. Mejorar la función inmune dando calostro entero fresco podría conducir a una mayor resistencia a las enfermedades, lo que resulta en animales más sanos que ingresan al hato lechero. También se puede concluir que las células inmunes transferidas afectan la respuesta celular a las vacunaciones en el ternero lechero.

ENGLISH VERSION

Colostrum – recall the old and understand what's new.

George Stilwell

Clinical Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon

Colostrum is the first secretion of the mammary gland excreted immediately after calving. Colostrum components start to be produced or transferred to the mammary gland some weeks before calving by hormone influence, namely by prolactin. Because the bovine epitheliochorial placenta prevents the intrauterine transfer of large molecules from cow to foetus, colostrum is essential for the transmission of immunity that will protect the newborn against infectious diseases. The innate and adaptive immune response capacity will then develop, progressively, from birth to puberty.

Bovine colostrum is very rich in immunoglobulins (especially IgG) but also in leucocytes, cytokines (e.g. IL-1β, IL-6, TNF-α e IFN-γ) and several bacteria inhibitors (e.g. lactoferrin). Approximately 70 enzymes have been identified in bovine colostrum. It is also an important source of energy, protein, vitamins, minerals, growth factors and many other elements, that are crucial to the health and development of calves. It is also essential for the meconium movement and release.

Perfect colostrum management is essential in dairy farms as no successful calf rearing is possible if good colostrum is not provided on time (first meal before 4 hours after birth) and in

sufficient quantity (at least 12% of birthweight). Colostrum quality is traditionally associated with the level of immunoglobulins (over 50 mg/L) that can be indirectly measured on-farm by several methods, namely by density, colour or % Brix. Because IgG is thought to be the most important immune component of colostrum, freezing has been accepted as a good mean of preserving it. It must be said that rules for freezing and thawing (no more than 60ºC and homogenous thawing) should be kept to guarantee top quality.

However, recently, more attention is being given to the cell component of bovine colostrum - 1 x 10^6 to 2.5 x 10^6 cells, of which about 30% are viable and have been identified in the bloodstream and tissues of calves after their first meal. The population of viable leukocytes in colostrum consists of about 14% of neutrophils, 16% of lymphocytes and 70% of large cells (monocytes/macrophages and epithelial cells). Although the role of colostral Ig in newborn protection is well demonstrated, the importance of colostrum leukocytes and cytokines has not yet been completely established. Nevertheless, research has shown that colostrum derived cells enhance the development of innate and adaptive immune function in the neonate and improve the responses of calves to *Escherichia coli* infection. It has also been demonstrated a better response of calves to future vaccination.

If evidence of cell component benefits is fully demonstrated, it will be advised to use fresh colostrum whenever possible. Frozen colostrum will still have a place for cases where the dam's colostrum is of very poor quality or good fresh colostrum is unavailable.

In contrast, heating colostrum (pasteurization, 60ºC for 60 min) seems to be beneficial not only as a way to control important herd diseases (e.g. paratuberculosis and mycoplasmosis), but because it is hypothesized that the presence of bacteria in colostrum could interfere with the systemic absorption of Ig molecules in the small intestine. However, overheating can damage colostrum quality – 63 °C for 30 min resulted in a mean loss of Ig of 12%.

Bovine colostrum has also shown to have protective properties in young individuals of other species (e.g. foals and puppies), improving immune functions and reducing disease incidence. Is has shown to have enteric anti-inflammatory activity as well as being anti-allergic and having anti-oxidative activity, in humans.

In conclusion, there is growing scientific evidence that colostrum role in the establishment of calf's immunity is not limited to the antibodies transferred but also that adoptively transferred leukocytes may be essential in pathogen clearance. Enhancing immune function by giving whole fresh colostrum could lead to increased disease resistance, resulting in healthier animals entering the dairy herd. It can also be concluded that transferred immune cells affect the cellular response to vaccinations in the dairy calf.

XXIII

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Dejemos huella

2018

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y PÓSTER

COMUNICACIONES ORALES



ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

GESTIÓN Y EXTENSIVO

EVALUACIÓN DE LA RENTABILIDAD DE UNA EMPRESA BOVINA LECHERA LOCALIZADA EN LOS VALLES CENTRALES DE OAXACA, MÉXICO

Durán E, Gaytán L , Gijón S

INTRODUCCIÓN. La producción lechera a nivel nacional en el año 2016 fue de 11'607.493 miles de litros de leche, de los cuales el 21% fue aportado por los sistemas semi- especializados. Para el estado de Oaxaca, la producción en este mismo año fue de 146.197 miles de litros que corresponden al 1.25 % de la producción nacional, debido a las condiciones orográficas en la región de los Valles Centrales, la ganadería que se practica en proporción mayoritaria es la familiar o de traspatio, sin embargo existe una minoría de explotaciones semi-especializadas que aportan el 9% de la producción estatal y que se caracterizan por utilizar ganado de la raza Holstein Friesian, inseminación artificial, alimentación en base de alfalfa y concentrados, ordeño mecanizado y organización para comercializar la leche; tal es el caso de una Sociedad de Solidaridad Social localizada en esta región de Oaxaca, a la cual se le evaluó la rentabilidad, que nos permita valorar las retribuciones reales que obtienen los productores integrantes de la misma, con base a la determinación de costos de producción por litro de leche y el establecimiento de indicadores basados en la actualización como son: el Valor Actual Neto (VAN) y la Tasa Interna de Retorno (TIR).

METODOLOGÍA. Para el alcance de estos objetivos, la investigación se realizó en diferentes etapas, en primer lugar se entrevistó a los socios, directivos y trabajadores de la empresa, para recabar la información que permitió la construcción de la Matriz: Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas (F.O.D.A.). Posteriormente y durante todo el proceso se recopiló y analizó la información existente sobre el tema en medios impresos y electrónicos para tener elementos de juicio que permitiera realizar una evaluación objetivo y metódica. Para obtener los costos de producción por litro de leche, determinar el VAN y establecer la TIR se analizó minuciosamente los estados contables y productivos de la sociedad como son: Los libros de diario, cortes mensuales de caja y estados financieros, aplicando fórmulas y procedimientos específicos para cada uno de los objetivos. Con base a este procedimiento y con la información recabada en campo se evaluó el comportamiento productivo de la empresa durante el periodo 2013-2015 específicamente sobre la producción de leche compilando los registros de producción diarios, mensuales y anuales, en donde se estableció que en año 2015 que fue el periodo que presentó la información más consistente, donde el precio de venta para ese año fue en promedio $6.18 y de estos $5.43 que significa el 87.9 % correspondieron a egresos por concepto de insumos destinados a la producción de leche y en consecuencia dejando una ganancia marginal de $0.75 (12.1 %).

RESULTADOS. Los indicadores de rentabilidad se calcularon tomando como base el año 2015 con una proyección estimada a 10 años, aplicando una tasa inflacionaria de 5.7 % dando los siguientes resultados VAN= $514'037.10 y TIR= 26%

Estos resultados determinan que la rentabilidad de la empresa es positiva, aunque con pequeños márgenes de ganancias, provocada esta situación por los elevados costos de producción y dependencia del exterior para el suministro de una parte de la materia prima como: alimentos balanceados concentrados y alfalfa achicalada.

CONCLUSIONES. En general los procesos productivos de la empresa son aceptables, situación que se evidencia con los parámetros productivos que ha logrado específicamente en la producción láctea y el tiempo que ha perdurado operando (30 años), pero sus procedimientos administrativos y contables son deficientes, situación que limita la toma de decisiones e impide establecer mecanismos operativos competentes.

REPOSICIÓN VOLUNTARIA: DE DATOS A DECISIONES

López-Suárez M, Castillejos L, Armengol E, Calsamiglia, S

INTRODUCCIÓN

El elevado grado de tecnificación de las explotaciones lecheras nos permite disponer de una gran cantidad de datos, tanto a nivel individual como de rebaño. La integración, análisis e interpretación de estos datos puede resultar muy útil para la toma de decisiones técnico- económicas con criterios objetivos que permitan mejorar la rentabilidad de las explotaciones.

En este sentido, existen varias técnicas de minería de datos, como los modelos estadísticos y las técnicas de inteligencia artificial, que ya han sido utilizadas para la gestión de datos en granjas de vacuno lechero[1,3,5].

En el presente estudio proponemos el uso de estas técnicas para facilitar la toma de decisiones de reposición voluntaria. Este tipo de reposición se basa en criterios económicos para la selección voluntaria de las vacas que serán reemplazadas por terneras de reposición, ya que se espera que estas sean más rentables[2,4]. En este caso, la información obtenida mediante la gestión de los datos a nivel de granja permitiría hacer una selección más objetiva de las vacas que deben ser reemplazadas, con el fin de mantener o aumentar la productividad del rebaño.

Así pues, el objetivo del estudio fue explorar la utilidad de la aplicación de técnicas de inteligencia artificial y estadísticas para identificar, de forma temprana, vacas con bajas expectativas productivas, susceptibles a ser eliminadas de forma voluntaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizaron dos aproximaciones distintas, técnicas de aprendizaje inductivo (inteligencia artificial) y técnicas estadísticas, para la integración, análisis e interpretación de una base de datos de 97.987 vacas Frisonas, proporcionada por la Confederación Nacional de la Raza Frisona (CONAFE).

En ambos modelos se fijó como variable respuesta la producción media por día de vida productiva "Prod/dVida" (kg de leche producidos en todas las lactaciones de cada vaca/ días entre la fecha del primer parto y la fecha de eliminación). Como "input" se seleccionaron 12 variables: control lechero en el pico de lactación (kg leche/d, %G, %P y RCS del 2º y 3º control), estación de nacimiento de la vaca y del primer parto, edad al primer parto, índices genéticos de producción (KL) y de mérito total (ICO), calificación morfológica del animal e índices reproductivos (intervalo parto-primera IA y días abiertos).

En la primera aproximación del estudio se utilizó una técnica de aprendizaje inductivo (Árbol de Decisiones: DT). El primer paso fue convertir las variables numéricas a discretas. Para ello, las vacas de la base de datos fueron ordenadas, de forma ascendente, según los valores de cada una de las variables (atributos), y distribuidas en cuatro cuartiles (MB: muy baja, B: baja, A: alta, MA: muy alta). Una cuestión clave en la construcción del DT es la selección del atributo más relevante para dividir la raíz principal, ya que cada una de las ramas del árbol

es un patrón que nos permite identificar qué tienen en común los animales de una misma clase. En este caso, los patrones obtenidos estaban formados por animales que compartían la misma clasificación (cuartil) para "Prod/dVida" y para otra o más variables. Se consideraron como significativos los patrones formados, como mínimo, por un 10% del total de vacas de la base de datos.

En la segunda aproximación del estudio se utilizó un modelo de Regresión Lineal Múltiple (MLR) incluyendo "Prod/dVida" como variable dependiente y el resto como variables independientes. Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico R 3.4.2. y se estableció $P<0.05$ como nivel de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del modelo de DT se obtuvieron varios patrones clasificatorios. Los más significativos, en cuanto al número de animales, fueron formados por la variable "KgLechePico" correspondiente a la producción media en el pico de lactación (kg de leche/d del 2º y 3º control lechero).

De las 97.987 vacas, 27.179 fueron clasificadas dentro del cuartil ["KgLechePico"=MB]. De estas, el 64,0% fueron clasificadas dentro del cuartil ["Prod/dVida"=MB] y el 21,7% dentro del cuartil ["Prod/dVida"=B]. De modo que el 85,8% de les vacas con una producción muy baja en el pico de la primera lactación tendrán una producción media muy baja o baja en su vida productiva.

En cuanto al modelo de MLR, la ecuación obtenida incluyó todas las variables independientes (R^2=0,51;$P<0.05$), siendo "KgLechePico" la variable independiente más relevante (R^2parcial=0,21). Por lo tanto, este modelo explicaría el 51% de la variabilidad de "Prod/dVida" y nos permite predecir, en parte, el rendimiento productivo de una vaca a partir de los datos disponibles en los primeros meses de su primera lactación.

CONCLUSIONES

Las dos metodologías utilizadas nos conducen a unos resultados muy similares, sugiriendo que, hasta cierto punto, se puede predecir la productividad de una vaca en base al rendimiento productivo de los primeros meses de lactación.

Sin embargo, los resultados presentados son preliminares y es necesario seguir trabajando para desarrollar un modelo práctico y sencillo que pueda ser utilizado como herramienta de apoyo en la selección de vacas candidatas a ser reemplazadas, incluso antes de que acaben su primera lactación.

REFERENCIAS

1. Edriss, M.A., Hosseinnia, P., Edrisi, M., Rahmani, H.R., Nilforooshan, M.A. Prediction of second parity milk performance of dairy cows from first parity information using artificial neural network and multiple linear regression methods. Asian J. Anim. Vet. Adv. 2008;3:222–229.
2. Fetrow, J., Nordlund, K.V., Norman, H.D. Invited review: Culling: Nomenclature, definitions, and recommendations. Dairy Sci.2006;89:1896–1905.
3. Grzesiak, W., Blaszczyk, P., Lacroix, R. Methods of predicting milk yield in dairy cows: Predictive capabilities of Wood's lactation curve and artificial neural networks (ANNs). Electron. Agric.2006;54:69–83.
4. Hadley, G.L., Wolf, C.A., and Harsh, S.B. Dairy cattle culling patterns, explanations, and implications. Dairy Sci.2006; 89: 2286–2296
5. Murphy M.D., O'Mahony M.J., Shalloo L., French P., Upton J. Comparison of modelling techniques for milk-production forecasting. J. Dairy Sci, 2014;97(6):3352-3363.

EVALUACIÓN DEL COSTE DE LA RECRÍA EN LAS GRANJAS LECHERAS ESPAÑOLAS

Grupo de recría de MSD Animal Helth Spain

INTRODUCCIÓN

Criar novillas es un equilibrio entre la nutrición, la economía y la patología. El "arte de la recría" consiste en optimizar los recursos siendo puntos clave la asignación de mano de obra especializada, la evolución de la condición corporal, el estudio y seguimiento de los datos, así como el cumplimiento de los planes preventivos de Salud. Todo ello bajo un riguroso "Plan de Control de Calidad" del producto final bajo el menor presupuesto que garantice los Objetivos marcados.

La rentabilidad de los rebaños lecheros no solo depende de la producción media o del volumen de leche vendida; sino que optimizar los costes para maximizar la producción vitalicia juega un papel fundamental. Relativo a la recría, numerosos trabajos demuestran la importancia de cómo recriemos a las novillas sobre la futura vida productiva (Wather y col., 2014, Brickell y Wathes, 2011, Bach 2011, Brickell y col 2009, Waltner-Toews y col, 1986). Además, el coste de la recría tiene un peso importante en las explotaciones lecheras, representando alrededor del 20% de los costes totales de la explotación (Gabler y col., 2000).

Conocer los costes de la recría, a qué se deben y cómo se distribuyen en las distintas fases es fundamental (Heinrich y col., 2013). Sin embargo, numerosas explotaciones desconocen estos costes (Boulton y col, 2017) no habiendo apenas datos al respecto en nuestro país. Para llevar a cabo el análisis económico es fundamental recopilar toda la información necesaria de la forma más precisa y real posible. Si bien en algunos casos necesitaremos recurrir a estimaciones o a valores consensuados a fin de lograr alcanzar la fase analítica.

OBJETIVOS

Por este motivo, en el grupo de especialistas en recría de MSD AH nos planteamos la necesidad de estandarizar el cálculo de los costes de la recría y consensuar una serie de criterios con el fin de analizar los costes, comparar resultados entre explotaciones, identificar puntos de mejora, fases más o menos eficientes o establecer valores objetivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tomando como base la sistemática propuesta por PennState (Univ de Pennsylvania) desarrollamos un sistema de recogida de datos y clasificación de los costes estableciendo los centros de coste, los grupos mínimos de análisis y consensuamos una serie de valores para determinados parámetros. A continuación, aplicamos la metodología en cinco explotaciones lecheras españolas a fin de evaluar la metodología y dar un primer paso hacia el conocimiento de los costes de la recría en las explotaciones españolas.

RESULTADOS

Para el cálculo del coste de recriar una novilla decidimos establecer 5 centros de coste principales para cada periodo: alimentación, mano de obra, encamado (incluye el gasto de cama, desinfectantes, mantenimiento, etc.), sanitario (gasto en medicamentos y servicios veterinarios) y gastos generales. Además, establecimos una serie de valores consensuados a la hora de realizar las siguientes valoraciones: coste de la ternera al nacer: 300 euros; mano de obra: 10,6 euros/hora; leche de vaca: precio de pago de la industria; repercusión de los gastos generales: 20% (si el censo de novillas representa un 66% o ajustado proporcionalmente); alimentación producida en casa: precio de mercado o precio de coste + coste de oportunidad;

amortizaciones (tiempos mínimos RD 1777/2004); y sobras de la ración de las vacas adultas: precio real de la ración.

Los resultados fueron variables entre granjas con un coste medio global de la recría de 2231,5+307,8€ y un coste medio diario de 2,5+0,4 €/día. La alimentación suponía el coste principal (63,6+2,9%), mientras que los gastos sanitarios sólo representaban el 2,26+1,0%.

Finalmente, dado que el impacto económico del coste de la recría a nivel de explotación dependerá no solo del coste de producir cada novilla sino del número de novillas que necesitaremos recriar y de la productividad que obtengamos con la misma, registramos también para el posterior análisis a nivel de explotación otros datos como la mortalidad, la edad al primer parto (EPP), la tasa de eliminación o la producción vitalicia (calculada en base a las vacas que abandonaron el rebaño el año anterior). Observándose una la tasa de reposición media del 31,5+3,9%, la EPP de 24,98+1,02 y una producción vitalicia 39543,4+ 8974,705691

Los resultados pusieron de manifiesto cómo explotaciones con un mayor coste por novilla producida pero una mayor eficiencia en su producción, con una menor EPP y/o una mayor producción vitalicia, resultaban ser más eficientes al determinar el coste de la novilla por Tm de leche producida (55,6+15,9€), de forma similar a lo descrito por Heinrich y col (2013).

CONCLUSIONES

Los costes de la recría juegan un papel importante, siendo fundamental conocerlos a fin de poder analizarlos y tomar decisiones más adecuadas.

EVALUACIÓN DEL BIENESTAR ANIMAL EN GANADO BOVINO EN SISTEMA EXTENSIVO

Rodríguez JM, Lomillos JM, Bartolomé C, Alonso ME

Contenido:

Los animales criados en sistemas extensivos viven en unas condiciones ambientales que les permiten desarrollar un comportamiento más natural, lo que, *a priori*, supone gozar de un mayor bienestar. Sin embargo, no están tan acostumbrados al contacto con humanos y a las instalaciones de contención, siendo, frecuentemente, menos dóciles. Estas circunstancias podrían causarles cierto grado de estrés en el momento de realizar tareas rutinarias sanitarias (campañas de saneamiento, vacunaciones y desparasitaciones). Además, no están exentos de problemas que comprometen su vida como por ejemplo: la predación, las deficiencias en el control sanitario por el difícil manejo, la ausencia de protección frente a las inclemencias del tiempo, la no provisión de agua y alimento cuando escasean, etc.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el bienestar en el ámbito de vida del ganado bovino en extensivo. Para conseguirlo, hemos seguido un protocolo de valoración rápido y sencillo, desarrollado por nuestro equipo de trabajo y a partir del proyecto Welfare Quality®, utilizado para la evaluación del bienestar animal del ganado vacuno en sistema intensivo.

Nuestro objetivo principal es la integración y evaluación del bienestar centrándonos en la alimentación, la salud, el comportamiento tanto individual como en grupo, el manejo, el buen estado fisiológico y las instalaciones. La selección de las granjas se hizo en base al sistema de producción que tienen, en este caso extensivo; a la raza, para comprobar las diferencias que puedan existir entre ellas; y a su ubicación geográfica. El número medio de animales de cada una de las 5 explotaciones evaluadas oscilaba entre un mínimo de 38 y un máximo de 401 animales, ubicadas geográficamente en la zona norte y sur de España (Extremadura y Asturias), durante el año 2017 en dos estaciones diferentes del año, primavera e invierno (durante los meses de Diciembre y Abril), empleando 40 animales mediante observación directa del mismo evaluador, y clasificándolos en subgrupos dependiendo de su estado fisiológico o productivo: vacas paridas recientemente, vacas gestantes y lactantes, vacas secas y terneras de recría, que se han calificado con una escala del 1 al 5 por cada indicador estudiado.

Los indicadores utilizados fueron: instalaciones, evaluándose la zona de descanso, comederos, bebederos y cercado; comportamiento en grupo, midiéndose el grado de curiosidad y de miedo ante la presencia humana; comportamiento individual, observándose el tiempo dedicado por los animales para comer, acicalarse, mantenerse en decúbito y realización de mediciones de distancia de aproximación permitida por los animales e índice de cojeras; salud, frecuencia respiratoria y estado de las mucosas, anomalías en piel (rozaduras), estado de ubres y pezuñas, cojeras y revisándose las heces de los animales; y por último el manejo, determinándose condición corporal y llenado ruminal y el índice de suciedad. Se han empleado las escalas de indicadores publicadas por Hulsen en 2007 y adaptado en escala de 1 al 5 las definidas en el protocolo Welfare Quality® de evaluación de bienestar animal en vacuno, con el fin de conseguir la mayor homogeneidad posible en la valoración con independencia del valorador.

Los datos fueron analizados a través de tablas dinámicas mediante el programa Excel y representados con gráficas por cada indicador de bienestar comparando las 5 granjas y las dos estaciones del año estudiadas. Los resultados obtenidos mostraron similitudes entre las diferentes explotaciones y algunas diferencias entre los períodos de invierno y primavera obteniendo, en general, un nivel de bienestar animal adecuado, que mejoró en la mayoría de los indicadores durante la época primaveral. Los indicadores más relevantes relacionados con la alimentación (llenado ruminal y condición corporal), reflejaron la ausencia de hambre a corto y largo plazo, respectivamente, en las cinco granjas. En todas las explotaciones, durante los meses de invierno, los animales se encontraban entre la condición 3 y 4, exceptuando algunos casos en el grupo de recría que los superaban, y en las hembras paridas recientemente que estaban por debajo. Sin embargo, en primavera estos valores se encontraban aumentados, situándose todas entre la condición corporal 3 y 4, y nuevamente, en algunos casos en la recría, se obtuvieron valores superiores.

En cuanto al comportamiento se observó que el índice de curiosidad descendía en la mayoría de las ganaderías (exceptuando la 3ª explotación y la recría de todas) en los meses de primavera con respecto al invierno. El indicador que manifiesta una repercusión más negativa sobre el bienestar del ganado bovino extensivo es el miedo a la presencia humana debido al escaso contacto con el factor humano y la implicación estresante de la mayoría de las prácticas de manejo. Pudimos comprobar que durante los meses de invierno el grado de miedo es inferior al mostrado en primavera. Atribuimos dicho comportamiento al efecto positivo que la suplementación de alimento durante la época invernal ejerce sobre la relación entre el ganado vacuno y las personas, lo cual debería ser tenido en cuenta a la hora de implementar estrategias encaminadas a disminuir los efectos estresantes del manejo durante las tareas sanitarias.

Como conclusión final, la valoración global refleja un alto grado de bienestar animal en todas las explotaciones estudiadas a pesar de la existencia de algunos indicadores mejorables.

MEDICINA

MANEJO CLÍNICO DE LESIONES DE TRONCO ENCEFÁLICO POR TRAUMATISMO EN UNA TERNERA

Herrero V, Villaescusa A, Re M, Manso-Díaz G, Criado F

INTRODUCCIÓN

Las lesiones intracraneales por traumatismos en el bovino son poco comunes y de mal pronóstico. Los neonatos son los más susceptibles por su menor densidad de bóveda craneana y resistencia encefálica. La mayoría de las lesiones se relacionan con golpes en la cabeza contra un suelo duro (1).

La información existente sobre la localización de lesiones encefálicas empleando resonancia magnética y sobre el tratamiento de la hipertensión intracraneal derivada de traumatismos en terneros es muy limitada, al contrario que en medicina humana y de pequeños animales (2-5).

DESCRIPCIÓN DEL CASO CLÍNICO

Se describe el caso clínico de un bovino hembra de raza Retinta de dos meses de edad y 65 kilogramos de peso que fue remitido al Servicio de Medicina y Cirugía de Rumiantes y otros Animales de Abasto del Hospital Clínico Veterinario Complutense (HCVC) ante la escasa probabilidad de evolucionar favorablemente en su explotación de origen tras sufrir un grave traumatismo craneoencefálico.

Desde el momento del traumatismo se encontraba en decúbito lateral, con incapacidad para levantarse, paresia y ataxia de las cuatro extremidades, giro de la cabeza hacia la derecha y movimientos circulares de la misma. Tras la administración de dexametasona en la explotación, el animal mostró una ligera mejoría clínica, consiguiendo mantenerse en decúbito esternal.

En la exploración general a su llegada al HCVC se observó obnubilación, ligera taquicardia y deshidratación, mucosas pálidas y secas, tiempo de rellenado capilar de tres segundos y periodos de apnea, con mantenimiento del reflejo de succión.

El examen neurológico condujo a sospechar de la existencia de un síndrome vestibular central por lesión en bulbo raquídeo derecho, debido a la existencia de: sensibilidad facial y estímulo táctil auricular disminuidos y respuesta de amenaza ausente de forma bilateral; nistagmo horizontal con fase rápida a la izquierda; ligero enoftalmo, estrabismo ventrolateral con rotación del globo ocular y reflejo palpebral y corneal ausentes en el ojo derecho; reflejo de retirada aumentado en las extremidades derechas.

Ante la gravedad de los signos clínicos, se instauró un tratamiento intravenoso durante dos días con manitol al 20 % y dexametasona tres horas después del mismo, continuando con suero salino hipertónico durante otros tres días más, controlándose en todo momento el estado de hidratación.

Tras la mejoría clínica, notable pero incompleta inicialmente, se realizó una resonancia magnética, observándose varias lesiones multifocales en sustancia blanca de tronco encefálico y cerebelo y presencia de líquido en bulla timpánica derecha, con lo que se decidió continuar el tratamiento con flunixin meglumine y ranitidina.

Los signos neurológicos relacionados con alteración de conciencia; postura, ambulación y reflejos espinales; y pares craneales, fueron mejorando paulatinamente hasta normalizarse por completo en dos, 13 y 20 días, respectivamente, desde su entrada al HCVC.

Una vez destetado el animal, volvió a su explotación de origen, sufriendo en muy raras ocasiones síncopes caracterizados por pérdida de conciencia, bradicardia y bradipnea repentinas al extender dorsolateralmente la cabeza, con recuperación espontánea en pocos segundos.

DISCUSIÓN

Las enfermedades del sistema nervioso central son relativamente comunes en el bovino, encontrándose entre las principales causas agentes infecciosos, deficiencias nutricionales, trastornos metabólicos, defectos genéticos y toxinas (6). La realización de una exploración neurológica completa resulta fundamental para localizar la lesión del sistema nervioso, independientemente de la causa subyacente (7-10). Un traumatismo craneoencefálico fue el desencadenante del cuadro neurológico de la ternera objeto del presente trabajo, en la que la presencia de signos vestibulares y alteración de la conciencia y de varios pares craneales que afectaban principalmente al lado derecho parecían indicar la existencia de lesiones en el tronco encefálico derecho, hecho que pudo confirmarse tras la realización de la resonancia magnética.

Los traumatismos craneoencefálicos resultan frecuentemente en hemorragias intracraneanas y/o en el desarrollo de edema, que conducen a un incremento de la presión intracraneal que, a su vez, afecta al flujo sanguíneo y al metabolismo cerebral, lo que empeora el edema. Como consecuencia, tras la lesión inicial se desarrolla rápidamente una lesión cerebral secundaria, siendo esencial prevenir o disminuir la gravedad de dicha lesión secundaria (10).

Apenas existen estudios sobre la descompresión intracraneal en grandes animales tras un evento traumático (4,5), extrapolándose por lo general de los resultados obtenidos en seres humanos y pequeños animales. Los principales tratamientos disponibles en grandes animales incluyen el uso de soluciones hipertónicas y corticoides (4,5). La combinación de manitol intravenoso seguido de dexametasona tres horas después para prolongar su efecto ha sido usada con excelentes resultados para tratar edema cerebral agudo en terneros con polioencefalomalacia (4,11-13), por lo que se decidió su empleo como terapia inicial en esta ternera, con evolución igualmente favorable, pese al pobre pronóstico de la lesión. No obstante, son necesarios nuevos estudios clínicos en el bovino que ofrezcan evidencia científica para el diseño de terapias adecuadas ante lesiones traumáticas causantes de incremento de la presión intracraneal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Divers T, Peek S. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. 2th Ed. Saunders. Wisconsin, U.S.A., 2008.

Schmidt MJ, Pilatus U, Wigger A, Kramer M, Oelschläger HA. Neuroanatomy of the calf brain as revealed by high-resolution magnetic resonance imaging. J Morphol. 2009 Jun;270(6):745-58.

Tsuka T, Taura Y. Abscess of bovine strain stem diagnosed by contrast MRI examinations. J Vet Med Sci. 1999;61(4): 425-27.

Radostis OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. 10th Ed. WB Saunders. London, U.K., 2006.

Smith BP. Medicina Interna de Grandes Animales. 4ª Ed. Elsevier Mosby. Barcelona, España, 2010.

Nietfeld JC. Neuropathology and diagnostics in food animals. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2012 Nov;28(3):515-34.

Constable PD. Clinical examination of the ruminant nervous system. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2004 Jul;20(2):185-

214, v.

Washburn KE. Localization of neurologic lesions in ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2017 Mar;33(1):19-25.

Fecteau G, Parent J, George LW. Neurologic examination of the ruminant. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2017 Mar;33(1):1-8.

Lorenz MD, Coates JR, Kent M. Handbook of Veterinary Neurology. 5th Ed. Elsevier

Saunders. Louis, Missouri, U.S.A., 2011.

Apley MD. Consideration of evidence for therapeutic interventions in bovine polioencephalomalacia. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2015 Mar; 31(1): 151-61. Cebra CK, Cebra ML. Altered mentation caused by polioencephalomalacia, hypernatremia, and lead poisoning. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2004 Jul;20(2):287-302, vi-vii.

Dore V, Smith G. Cerebral disorders of calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2017 Mar;33(1):27-41.

DESCRIPCIÓN DE LA RECRÍA, MORBILIDAD, MORTALIDAD Y FERTILIDAD, EN GANADERÍAS LECHERAS DE LA PROVINCIA DEL AZUAY, ECUADOR

Rodas R , Vázquez J, Nieto P, Pesántez MCalle G, Dutan J, Murillo Y, González JV, Ayala L

En la producción ganadera es importante controlar enfermedades dentro y fuera de la ganadería (Shortall *et al*., 2016), estas tienen efecto significativo sobre la producción, fertilidad, y subsecuente descarte (Velasova *et al*., 2017). Estudios previos señalan la muerte embrionaria y fetal como primera causa de perdida de crías, seguida por mortalidad perinatal (primeras 24h de vida), debida un 50% a distocia. En el primer mes, en orden de importancia son la diarrea y el síndrome respiratorio bovino, (SRB), respectivamente la principal causa de muerte. A partir de aquí el SRB es la principal causa de bajas. Durante la recría, el SRB provoca el 21,3% de bajas durante la lactancia y el 50,4% de muertes luego del destete (González, 2012).

Existe relación directa entre salud, crecimiento y reproducción de crías. La edad al primer parto (EPP) mide condiciones de manejo, alimentación y crecimiento. Un primer parto temprano resulta en una vida útil prolongada y mayor número de descendientes (Alfonso, Antonio, & Esteban, 2007).

Entre noviembre y diciembre del 2017 se analizaron 124 ganaderías ubicadas en la provincia del Azuay, Ecuador, de estas se seleccionaron para este estudio 55, clasificadas por el tamaño del hato en grandes (GG) (n=17) con 20 o más animales en producción y pequeñas (GP) hasta19 (n=38). El sistema de producción es en pastoreo continuo y recría con lactación natural de la madre. Los datos se obtuvieron mediante encuesta. El objetivo de este estudio fue describir la morbilidad y mortalidad por diarrea y neumonía en la recría y sus parámetros reproductivos.

La morbilidad y mortalidad neonatal (hasta las primeras 48h de vida) por diarrea en GP se estimó en: 2,3% y 0,77% respectivamente, en la lactancia (de 48h hasta el destete): morbilidad 2,04% y mortalidad 0,26%; en el post destete (del destete al primer parto): morbilidad 3,32% y mortalidad 0,77%. La morbilidad durante toda la recría por diarrea fue de 7,65% y la mortalidad del 1,79%. Para SRB los datos fueron: morbilidad y mortalidad neonatal 3,32 y 1,5% respectivamente; lactancia: morbilidad 4,08% y mortalidad 0,77%; y post destete: morbilidad 0,77% sin mortalidad.

En GG los resultados por diarrea fueron: morbilidad y mortalidad neonatal 0%; en la lactación: morbilidad 2,06% sin mortalidad; en el post destete morbilidad y mortalidad 0%. Los resultados para SRB fueron: morbilidad neonatal 7,96% y mortalidad del 4,13%; lactancia: morbilidad del 4,13% y mortalidad del 0,88%; post destete sin casos.

De la morbilidad total el reparto entre diarrea y SRB fue del 33,64 y 66,36% respectivamente, mientras que la mortalidad fue del 21,21% para diarrea y 78,79% para SRB.

Knauer, Godden, Dietrich & James (2017) en trabajos previos encontraron como enfermedades más comunes la diarrea con el 50% de morbilidad y neumonía con el 19%. Walker *et al* (2012) registro el 20% de morbilidad para diarrea con el 1,2% de mortalidad.

Los resultados de estos trabajos evidencian que los valores de morbilidad y mortalidad para diarrea encontrados en nuestro trabajo son inferiores, mientras que para el SRB los datos son peores, pero hay que considerar que se incluye el periodo neonatal, si se considera el resto del periodo de recría, que sería el que hay que comparar con los trabajos que se publican, los datos también son mucho mejores.

Por otro lado, en las ganaderías estudiadas la edad al primer servicio (EPI) en las pequeñas es 19,54 meses, la EPP de 28,51 meses con 1,4 servicios por preñez (NIs). En las grandes la EPI y EPP está en 19,20 y 28,23 meses respectivamente.

Estas edades tienden a variar dependiendo de si se suplementa o no y del momento de la suplementación en GP y GG.

Período que suplementa	Lactancia y destete		Solo-Lactancia		Solo-post-destete		Ninguno	
Tipo-Gan	**GP**	**GG**	**GP**	**GG**	**GP**	**GG**	**GP**	**GG**
EPI	19,75	18,5	19,20	20,20	**20,14**	18	**18,88**	24
EPP	28,68	27,5	28,20	29,20	29,14	27,20	27,88	33
NIs	1,46	1,8	1,6	1,8	1,21	1,5	1,27	1

Edad en meses para EPI, EPP y NIs.

En GP, la EPI más tardía (20,14 meses) corresponde a la categoría con suplemento solo en el post destete, llama la atención en estas ganaderías que cuando no se suplementa las vaquillas sean servidas más tempranamente (18,88 meses), pero hay que tener en cuenta que la lactancia es natural y se alarga hasta los 3 meses. Para GG la EPI más temprana (18 meses) corresponde a la suplementación solo en el post destete, y la más tardía (24 meses) cuando no se suplementa en ninguna etapa.

Productores y profesionales opinan que la EPP óptima en vacas lecheras este entre 22 y 27 meses, con una media de 24 (Masso, 2007), nuestros resultados (28,23 meses EPP), el más temprano esta distantes del ideal. Krpálková (2014) indica que pocas granjas lecheras alcanzan la EPP óptima. Aun cuando se alimentan crías de manera similar se observa variabilidad en la EPP.

PREDICCIÓN DE ENFERMEDADES PERIPARTO MEDIANTE EL COMPORTAMIENTO DE LAS VACAS EN EL PREPARTO

Belaid MA, Rodríguez-Prado M, Calsamiglia S

INTRODUCCIÓN

El periodo de transición en vacas lecheras se asocia con un

pico de incidencia de enfermedades (hipocalcemia, cetosis, desplazamiento de abomaso, retención de placenta, metritis y mastitis). Estas enfermedades tienen un impacto negativo sobre la economía de las granjas. La aplicación de medidas de prevención periparto (sales aniónicas, bolos de calcio, monensina, aditivos alimentarios...) puede ser una buena solución, pero pueden ser caros si se aplican de forma sistemática a todas las vacas sin saber las que van a estar enfermas.

Huzzey *et al.* (2007) observaron que el comportamiento alimentario de las vacas durante el preparto podía predecir el riesgo de padecer metritis postparto. Las mismas conclusiones fueron alcanzadas por Urton *et al.* (2005). Sin embargo, los equipos utilizados para la monitorización del comportamiento en estos estudios (Urton *et al.*, 2005; Huzzey *et al.*, 2007) son caros, lo que limita su aplicación en condiciones de campo.

El objetivo de nuestro estudio fue usar los podómetros de última generación como alternativa para evaluar el comportamiento de las vacas antes del parto y su relación con la incidencia de patologías post parto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se instaló un sistema de podómetros (ENGS systems®, Israel) en una granja comercial situada en la provincia de Lérida. Se seleccionaron 129 vacas Holstein a las que se pusieron podómetros al menos 21 días previos al parto. Los podómetros midieron el número de visitas al comedero, el tiempo de acceso al comedero, el tiempo tumbado, el tiempo de pie, los cambios de pie a tumbada (swaps) y el número de pasos. Los datos de los podómetros se obtuvieron del software ECOherd del sistema, y la incidencia de patologías postparto del registro sanitario veterinario diario. Los datos se utilizaron para describir el comportamiento de los animales en el periodo preparto y analizar su relación con la incidencia de enfermedades postparto (desplazamiento de abomaso, retención placentaria, hipocalcemia, metritis y mastitis). Los datos fueron analizados mediante el procedimiento ANOVA GLM del programa SAS (Versión 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra que las vacas sanas durante el secado permanecen el 51% del tiempo tumbadas (12,3 h), el 37% del tiempo de pie (8,4 h) y el 12% restante en los comederos (3,3 h). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en vacas secas por otros investigadores (Proudfoot *et al.*, 2010; Sepúlveda *et al.*, 2014).

La comparación de estos valores con los de las vacas enfermas permitió identificar patrones de comportamiento preparto que se asocian directa e inequívocamente con una enfermedad específica (Tabla 1). El aumento en el tiempo tumbado, y la reducción en el número de visitas al comedero y el número de pasos permiten predecir el riesgo de padecer un desplazamiento de abomaso. Cuando únicamente aumenta el tiempo tumbada puede sospecharse un mayor riesgo de mastitis. El aumento del tiempo de pie y la reducción del tiempo de acceso al comedero se asocian con la aparición de retención de placenta, metritis e hipocalcemia. La diferencia entre estas enfermedades se puede realizar a partir del número de visitas al comedero, los cambios de pie a tumbado y el número de pasos. La hipocalcemia se asoció con una reducción de todos estos índices, mientras que la metritis se asoció con una reducción del número de visitas al comedero y el número de pasos. Estos resultados no se pueden comparar directamente con otros trabajos en la bibliografía debido a que no hay estudios que hayan integrado datos de podómetros para predecir el riesgo de padecer diferentes enfermedades a la vez.

La aplicación de medidas preventivas en todo el rebaño sin saber la incidencia puede ser cara. Los resultados obtenidos pueden permitir predecir los animales en riesgo de padecer enfermedades posparto con una antelación de 7-15 días y, por lo tanto, hacer un tratamiento preventivo dirigido que reducirá el coste de prevención. Además, el sistema de podómetros utilizado es asequible para utilizarlo en condiciones de campo.

Tabla 1. Comportamiento durante las 3 semanas previas al parto en vacas sanas y vacas con enfermedades potsparto (sólo se indican las diferencias significativas respecto a las vacas sanas).

Enfermedades	Tiempo de acceso al comedero (min/día)	Número de visitas al comedero (visita/día)	Cambio de pie a tumbado (núm/día)	Número de pasos (núm/día)	Tiempo tumbado (min/día)	Tiempo de pie (min/día)
Vacas sanas	200	9,4	12,1	1913	735	505
Desplazamiento de abomaso	-	- 3.8	-	- 562	+125	-
Metritis	- 69	-1,0	-	-568	-	+ 29
Hipocalcemia	- 94	- 1,4	-2,7	-831	-	+ 95
Retención de Placenta	- 70	-	-	-	-	+ 119
Mastitis	-	-	-	-	+ 95	-

Los resultados no significativos; los resultados significativos se muestran con número positivo o negativo según su diferencia respecto a las vacas sanas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Huzzey, J. M., Veira, D. M. Weary, D. M., & von Keyserlingk M. A. G. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. J. Dairy Sci. 90:3220-3233.

Proudfoot, K. L., Weary, D. M. & von Keyserlingk, M. A. G. 2010. Behavior during transition differs for cows diagnosed with claw horn lesions in mid lactation. J. Dairy Sci. 93:3970-3978.· Sepúlveda-Varas, P., Weary, D. M., & von Keyserlingk M. A. G.47. 2014. Lying behavior and postpartum health status in grazing dairy cows. In: J. Dairy Sci.97:633-6343. · Urton, G., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. 2005. Feeding behaviour identifies dairy cows at risk for metritis. J. Dairy Sci. 88:2843-2849.

NUTRICIÓN

ESTATUS MINERAL (DIETA Y SUERO) DEL VACUNO DE LECHE EN ESPAÑA: ECOLÓGICO VS CONVENCIONAL

Miranda M, Orjales I, Rodríguez-Bermúdez R, Pereira V, Rigueira L, López-Alonso M

OBJETIVO

La agricultura ecológica promueve el uso de recursos locales y limita la aplicación de productos químicos, incluidos los suplementos minerales inorgánicos (Council Regulation (EC), 2007). En la ganadería ecológica, la nutrición animal es, por lo tanto, altamente dependiente de las condiciones geográficas locales y las deficiencias de minerales pueden ocurrir en ciertas áreas debido a la baja disponibilidad de algunos oligoelementos o

elementos traza. El presente estudio tiene como objetivo (i) evaluar el estado de oligoelementos de los rebaños lecheros ecológicos (suero) en el norte de España y los niveles de estos oligoelementos en los diferentes componentes de la ración, y (ii) compararlos con los rebaños y alimentos de ganaderías convencionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 522 muestras de sangre (suero) procedentes de 22 granjas de ganado lechero en ecológico del norte de España y 181 muestras de 10 granjas en convencional. De todas las granjas se tomaron muestras de alimento (concentrado (*n*=44), pasto (*n*=46), silo de hierba (*n*=31), alfalfa (*n*=12), heno (*n*=18) y silo de maíz (*n*=13)), y se analizaron 128 muestras de alimento de las granjas ecológicas y 36 de las convencionales. Se analizaron los niveles de elementos esenciales (cobalto (Co), cromo (Cr), cobre (Cu), hierro (Fe), yodo (I), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), selenio (Se) y zinc (Zn) por espectroscopia de masas con fuente de plasma acoplado (ICP-MS). Para determinar la contribución de los diferentes alimentos en el estatus mineral del ganado se realizó un análisis quimiométrico multivariante.

RESULTADOS

DIETAS: En general y considerando valores medios por ingredientes de la ración, el concentrado contiene los mayores niveles de Co, Cu, I, Se y Zn (más de un orden de magnitud), estando más bajos en el pasto y el silo de hierba, donde encontramos las mayores concentraciones de elementos derivados del suelo, como el Cr y Fe. Las concentraciones de Cu, Se y I en alfalfa, heno y silo de maíz estaban por debajo de los requerimientos nutricionales. En el análisis quimiométrico observamos cómo se agrupan en función del perfil mineral y la contribución de cada ingrediente al conjunto de la ración y al estatus mineral de los animales, por un lado los concentrados, por otro el pasto y silo de hierba y por otro la alfalfa, heno y silo de maíz. Observamos que las concentraciones de los oligoelementos esenciales Cu, I, Se y Zn fueron significativamente mayores en las raciones de los sistemas convencionales que en las ecológicas, lo que puede atribuirse a la alta concentración de estos minerales en los concentrados. No se encontraron diferencias entre sistemas en las concentraciones de minerales en los otros tipos de alimento analizados (pasto, silo de hierba, alfalfa, heno y silo de maíz).

SUERO: se observaron deficiencias de Cu, I y Se, tanto en los sistemas ecológicos, donde el porcentaje de granjas y animales deficientes fue mayor, como en los convencionales. Y en el caso del I y Se las granjas con animales deficientes tenían dietas deficientes (por debajo de los requerimientos nutricionales). De hecho los niveles en suero estaban correlacionados con los niveles en la dieta (I: R =0.489, *P <0.001*; and Se: R =0.650, *P <0.001*). En general, no se detectaron diferencias en las concentraciones de elementos traza en suero entre los animales de las granjas ecológicas y las convencionales, a pesar de que las concentraciones de minerales en el forraje y en los concentrados en las granjas ecológicas fueron más baja.

En cambió se detectó un alto nivel de variación entre-granjas en los sistemas ecológicos, lo que indica que la producción ecológica depende en gran medida de las condiciones locales específicas de cada granja; hecho también observado en el análisis quimiométrico de las dietas.

CONCLUSIONES

El estudio quimiométrico de las dietas identificó dos fuentes principales de oligoelementos: (i) el concentrado como la principal fuente de oligoelementos incluidos en los suplementos minerales en concentraciones más altas que en los otros alimentos (principalmente, Co, Cu, I, Se y Zn), evitando así las deficiencias minerales, y (ii) la ingestión de suelo (durante el pastoreo o el consumo de forraje contaminado con el suelo) como principal fuente de oligoelementos no suplementados (Cr, Mo y Ni), o elementos suplementados, pero que están a mayores concentraciones en el suelo y/o forraje que en los concentrados (Fe y Mn).

EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN CON LACTOREEMPLAZANTES CON DISTINTAS FUENTES DE PROTEÍNA SOBRE EL CRECIMIENTO DE TERNEROS, CONSUMO DE PIENSO Y COSTES DE LA ALIMENTACIÓN

Maynou G, Tapiolas M, Heras J

One hundred and eight Holstein female calves (3.7 ± 1.07 days of age and 38.9 ± 3.81 kg of body weight) were sequentially assigned to one of two milk feeding regimes by week to evaluate pre- (day 1 to 56) and post- weaning (day 57 to 91) calf starter intake, growth and feed efficiency. A second objective was to perform an economic analysis of each feeding regime using feed costs and the average cost per kilogram of gain for pre- and post- weaning calves. From the first day of the study until day 63, all enrolled calves were allocated in individual pens. Thereafter, only the first 79 enrolled calves were kept in the study and sequentially allocated in group pens from day 64 to 91 by weekly batches. Milk feeding regimes included: 1) Nurture 2.0 milk replacer (24.0% CP; 18% Fat) containing milk protein as unique source of protein (MRP); 2) Arranque milk replacer (22.5% CP; 18% Fat) containing milk and soy protein concentrate as protein source (MRS). Calves of both feeding regimes received 2 liters of milk at 12.5% of concentration on a dry matter basis twice daily from the beginning of the study to day 20. Then, the volume of milk offered increased to 3 liters twice daily until day 48, at which time milk replacer was decreased to 1 daily dose of 3 liters from day 49 to weaning at 56 days of study. From day 1 to the end of the study, calves had free access to water and starter in meal form (19.1% CP; 22.1% NDF; 3.0% fat). Feed intake was individually recorded from day 1 to 63 of the study, and by group from day 64 to

91. Body weight and hip height were measured on the first day of the study and then biweekly until day 63 for calves housed individually and until day 91 for calves housed in group. Data for 84 MRP and 93 MRS fed calves were analyzed to evaluate the effect of feeding regimes on calf-productive parameters from initial of the study to day 63. Also, data for 11 MRP and 10 MRS group-calves of 4 individuals ± 1 were considered to evaluate the effects of feeding regime on both, calf-productive parameters and feeding economics, from initial to the end of the study at day 91. For all statistical analysis, the MIXED procedure of SAS was performed. Calves fed MRP showed greater growth rates ($P < 0.01$), both in body weight and hip height, than those fed MRS before and after weaning. These differences in body weight and hip height between feeding regimes were mainly due to a greater ($P < 0.01$) average daily gain of body weight and hip height in calves fed MRP than in those fed MRS during the pre-weaning period. No differences were observed for these parameters between feeding regimes during the post-weaning period. Neither, differences in the consumption of milk and starter on a dry matter basis were observed between calves fed MRP and MRS before and after weaning, whereas starter intake increased with calf age in both feed-

ing regimes, especially at weaning. Calves fed MRP showed greater ($P < 0.01$) feed efficiency during the pre-weaning period than calves fed MRS, whereas feed efficiency of calves from weaning to the end of the study was similar between feeding regimes. Regarding economic analysis of the feeding regimes, MRP calves had greater ($P < 0.01$) milk feed cost (60.2 €/calf ± 0.07) than MRS calves (54.5 €/calf ± 0.08). In contrast, the average cost per kilogram of gain for the MRP calves (2.1 €/kg ± 0.04) was lower ($P < 0.05$) than that of the MRS calves (2.2 €/kg ± 0.05) during the pre-weaning period, whereas after weaning it was similar between feeding regimes. Data of the present study indicate that feeding to dairy calves a milk replacer with a higher protein level and containing milk protein as the unique source of protein instead of a milk replacer with a lower protein level and containing milk and soy protein concentrate results in greater growth rates and improved feed efficiency of calves before weaning. Furthermore, the greatest growth rates of preweaned calves fed MRP than those fed MRS leads to lesser costs per kilogram of gain in calves fed milk replacer containing solely milk protein than those fed milk replacer with both, milk and soy protein, although the first milk feeding regime has the greatest feed cost.

VARIOS

¿HEMOS PERDIDO NUESTRA CAPACIDAD DE ANALIZAR Y DECIDIR? I

García F

El nivel alcanzado por la ciencia en nuestros días es tal, que los veterinarios de campo podemos tener la sensación de que ya no tenemos capacidad para decidir por nuestros propios conocimientos y experiencias la validez o no de las técnicas y protocolos que nos proponen los científicos e investigadores, porque surgen de complicados procesos de investigación.

Y en la mayoría de las ocasiones es lo lógico, porque no está a nuestro alcance confirmar o rebatir sus recomendaciones.

Pero quizá a veces nos dejamos llevar por los protocolos y tratamientos que nos vienen dados, sin ni siquiera pararnos a pensar, no ya si son correctos o no, no vayamos a pecar de pretenciosos, sino si son los adecuados a "nuestras circunstancias", que a lo mejor no son las mismas que las que se daban en las investigaciones que les llevaron a esas conclusiones. Y podemos analizar varios ejemplos que pueden ilustrar lo que podríamos considerar una falta de capacidad crítica por nuestra parte a la hora de ejercer nuestro trabajo.

TÉCNICA DE INSEMINACIÓN:

Todos los manuales de aprendizaje sobre la técnica de inseminación comienzan diciendo:

INTRODUCIMOS LA MANO IZQUIERDA EN EL RECTO DE LA VACA. Pero por otro lado

también se insiste en que en esa maniobra es muy importante que la mano que "maneje" sea la que tenemos en el útero, no la que manipula el inyector. Y entonces es cuando me pregunto: ¿qué sentido tiene meter la izquierda en el recto?. En buena lógica deberíamos meter la mano derecha (y ya sabemos que hay personas zurdas), y dejar la izquierda simplemente para sujetar el inyector. Y si nos fijamos en los inseminadores de mano izquierda, veremos cómo retuercen el inyector hasta lograr introducirlo, mientras que los de mano derecha pueden tardar unos minutos pero apenas les vemos manejarlo. Además tenemos otro aspecto incongruente: entrenamos nuestra malo "mala", pero cuando necesitamos nuestra mano "fina" por ejemplo para diagnosticar, la tenemos desentrenada. En el caso de utilizar ecógrafo para las exploraciones nos encontramos en una situación similar: parece más lógico utilizar la mano derecha para manejar la sonda y la izquierda para manejar la pantalla en la que casi lo único que hacemos es encender y a apagar o parar la imagen. Además, al introducir la mano derecha podremos desplazar el aparato reproductor hacia la izquierda, sobre la panza, lo que favorece el manejo de úteros muy grandes y descolgados.

Y por más que he recurrido a expertos académicos e inseminadores prácticos no encontramos razones para mantener la recomendación de usar la mano izquierda, pese a lo cual nadie se atreve a contradecir a los manuales.

OXITOCINA. PROMOTORA DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE.

Durante bastantes años, en tiempos recientes, se extendió la teoría de que la aplicación de oxitocina en el momento del ordeño incrementaba la producción de leche. Y hemos conocido a muchos expertos que así lo afirmaban.

Pero pensemos en su mecanismo de acción: contraer las fibras musculares de los acinis glandulares. ¿Y dónde a está el incremento de producción?. Porque no actúa por ejemplo en el metabolismo de la glucosa o los aminoácidos, ni en el flujo sanguíneo de la ubre, ni en nada semejante. Cuando hacíamos esta reflexión no encontrábamos una respuesta que explicara el porqué de esa recomendación.

Y a primera vista puede parecer lo contrario: una vaca que produce 10 litros por ordeño, aplicando oxitocina nos produce 12 (10 + 2 de leche residual). Objetivo cumplido. En el siguiente ordeño, si no ponemos oxitocina nos produce 8 (10 – 2 de leche residual), y si la ponemos nos dará 10. Confirmado. Pero a final de mes tenemos que sin oxitocina hemos producido: 30 días X 2 ordeños X 10 litros = 600 litros. Y con ella 12 + 59 ordeños X 10 litros = 602 litros. ¡GRANDE DIFERENCIA POR DIOS!. Sin embargo sí hemos conseguido tener a nuestros animales dependientes de la hormona para el resto de su vida, para alegría de su dueño.

Por eso, a día de hoy es una práctica casi desterrada, para lo cual hemos tenido que esperar a que desapareciera la última de nuestras vacas adictas. Y sólo nos queda su utilización terapéutica en mamitis o problemas de descarga en vacas individuales, que es el uso que siempre debió de tener en cuanto su actuación sobre la ubre.

MEZCLA DE RAZAS LECHERAS. PROCROSS

Esta fue una práctica que en realidad tuvo poco recorrido al menos en las regiones que conozco, pero gozó de cierto predicamento entre algunos sectores ganaderos, y venía avalado por la supuesta experiencia positiva en Norteamérica. Y tiene su lógica pensar que del cruce de razas y del vigor híbrido correspondiente tengamos beneficios tales como mejoras en la salud, fertilidad, etc que mejorarían los resultados económicos de nuestras explotaciones. Pero la cuestión es que nuestros ganaderos facturan leche, y la producción de estos individuos cruzados se ve sustancialmente reducida en la práctica en mayor medida que el -1,5 % que referencian en algunas publicaciones. Y con el tiempo vemos que apenas quedan individuos resultantes de tales experimentos en alguna explotaciones que iniciaron esta práctica. Quizás en sistemas productivos menos intensivos o en condiciones ambientales más difíciles, si que pueden ser rentables estos animales no tan especializados como la raza frisona moderna y más adaptados a condiciones menos favorables.

¿HEMOS PERDIDO NUESTRA CAPACIDAD DE ANALIZAR Y DECIDIR? II

García F

IMPACTO ECONÓMICO DE LA EDAD AL PRIMER PARTO.

Todos tenemos claro que hay numerosos estudios donde se concluye que la inseminación temprana de las novillas nos aporta mayores ingresos debido al adelanto en el inicio de la producción, la disminución de necesidades de reposición, el mayor número de animales nacidos por unidad de tiempo, y algún beneficio más. Sin embargo nunca se reconoce la existencia de ciertos costes asociados, como son los derivados de un mayor gasto en alimentación para llegar a los pesos mínimos para inseminar, o del riesgo de partos dificultosos, o si la producción láctea se ve afectada, o la supervivencia de la madre y la cría, etc. La experiencia de muchos de nosotros nos enseña que algo de todo eso pasa. Vemos estudios hechos con los datos de varios miles de novillas que parecían indicar mejoras en la producción cuando los partos eran más tempranos, como los realizados con más de 8,000 novillas en Galicia o con más de 4,000 en los EEUU. Ahora bien, cuando hemos realizado comprobaciones en explotaciones comerciales con datos de control lechero oficial, los resultados son diferentes:

Los datos recogidos en 11 explotaciones son los siguientes:

Fórmulas de la linea de tendencia de los gráficos que asocian edad al parto y producción de leche a 305 días:
0,610 X + 8974
2,035 X + 2840
3,51 X + 3543
4,811 X + 5560
5,430 X + 6829
5,440 X + 5637
7,280 X + 2112
8,650 X + 3825
16,79 X + 3133
16,87 X + 2302
-2.250 X + 3358

En 10 casos de 11 estudiados tenemos mayores producciones cuando las novillas tienen más edad al parir, comparando siempre los animales de una misma explotación, que son los que podemos estudiar con más homogeneidad en los otros factores que pueden afectar a la producción de leche. Los estudios mencionados, aunque recogen datos de muchos animales, lo cual podría indicarnos mayor fiabilidad estadística, contradicen estos hechos. Pero una vez analizados puede comprobarse que en realidad hay otra explicación: los animales de explotaciones de mayor nivel genético, de manejo, alimentación etc, suelen cubrir sus novillas más jóvenes que otras ganaderías de peor nivel. La consecuencia es que las novillas jóvenes son más productivas, pero NO por ser jóvenes.

Además a veces vemos estudios sobre desarrollo de novillas que no son fácilmente entendibles. Veamos dos ejemplos.

CATHY SPEARS. Shiloh Dairy. MUNDO GANADERO

1ª IA a los 13 meses Parto 22 – 23 meses

Peso estandar al inseminar 340-365 kg 55 % del peso adulto (Peso adulto pues de 618 a 663, cuando realmente nuestra vacas pasan de 700 kg fácilmente)

9 meses (275 días de gestación) para ganar de 278 a 298 Kg, entre 1011 y 1084 gramos de ganancia diaria, y eso implica normalmente un engrasamiento excesivo, muy perjudicial para la producción lechera.

Publicación española de 2012:

Hasta 3 meses de vida: 750-850 gr/día y peso final de 80 Kg

Hasta inseminación (9-10 meses más tarde): 850-950 g/día y peso final 339 a 380 kg

(127 cm a la cruz ó 145 cm a la grupa)

Hasta el parto (9 meses): 650-750 g/día y peso final 600 a 650 kg

Si analizamos los datos vemos que incluso con las condiciones más optimistas no logramos tener animales suficientemente desarrollados en el momento del parto.

650 – 380 = 270 kg para crecer en 9 meses/270 días. Es decir 1kg diario, y nunca se reseña ese crecimiento.

FERTILIDAD DE LOS TOROS COMO SOLUCIÓN A LA MALA FERTILDAD

Es un argumento de marketing muy frecuente en la venta de semen bovino, el recurrir al carácter de fertilidad del toro, usado además como solución a los problemas de fertilidad que pudieran aquejar a una explotación (es decir, a todas). Y en sentido estricto es una realidad, pero la diferencia entre los toros más y menos fértiles es tan pequeña que en el fondo supone un engaño recomendar uno u otro como solución para las vacas repetidoras. Porque con el número de inseminaciones que podemos encontrar en una granja media y considerando que lo usaríamos en animales problema, apenas notaremos su efecto. El Dr Gamal Abdel-Azim dice que entre los mejores y peores toros por fertilidad puede haber hasta un 3% en tasa de fertilidad, es decir, que cuando el toro más fértil preñó 100 vacas, el peor preñó 97. Una diferencia inapreciable en la práctica en la mayoría de granjas.

El SCR americano considera ya diagnósticos confirmados,y tiene en cuenta todas las inseminaciones, la consanguinidad, la edad de los toros etc. Es más exacto, pero su significado sigue siendo que un punto de SCR implica un 1 % mejor que el toro con ese punto menos: eso no soluciona ningún problema de fertilidad en una explotación.

IMANES TERAPÉUTICOS EN LA RETICULOPERICARDITIS TRAUMATICA

El uso de imanes intraruminales es una técnica generalizada para prevenir la reticulopericarditi traumática ocasionada por objetos metálicos ingeridos por los bovinos. Y esto no tiene nada que objetar. Sin embargo es muy frecuente que ante un caso clínico ya declarado, entre las medidas terapeúticas aplicadas está la de introducir en rumen uno de esos imanes. Nos hemos parado a pensar ¿para qué?. Porque sería, comparándolo con un símil, como si después de recibir un disparo nos recetaran un chaleco antibalas. Para que el imán nos resolviera el problema tendría que llegar a rumen y pasar a retículo, allí atraería al objeto metálico desclavándolo de donde esté, y si fuera posible volver a rumen donde no causaría ya ningún inconveniente. Me parece mucha aventura.

No obstante sí hay un posible efecto beneficioso: nuestro cliente puede estar más convencido de que hemos hecho todo lo posible para resolver el problema de su animal.

00000000

Estos ejemplos deberían hacernos reflexionar sobre el hecho de que demasiadas veces asumimos, sin cuestionarlos, unos principios por el mero hecho de que han sido propuestos por investigadores de prestigio o impuestos por la costumbre, y ello a pesar de que nuestra experiencia diaria no los avale. Por eso, aunque parezca que es navegar contra corriente deberíamos confiar nuestros propios conocimientos y actuar en consecuencia.

SANIDAD

PREVALENCIA DE NOROVIRUS Y TOROVIRUS BOVINO EN TERNEROS CON DIARREA Y COMPARACIÓN ENTRE DIFERENTES QPCRS COMERCIALES PARA DIAGNÓSTICO: RESULTADOS PRELIMINARES

Prieto A, Díaz-Cao JM, Díaz P, Benito A, Arnal, JL, Baselga R, López-Lorenzo G, Remesar S, Pérez-Creo A , López C , Panadero R, Iglesias A, Quintela, LA, Morrondo P, Díez-Baños P, Fernández G

Las diarreas en terneros son una frecuente causa de pérdidas económicas para las ganaderías de vacuno, tanto de aptitud láctea como cárnica. La etiología de estas patologías incluye gran variedad de agentes bacterianos, víricos y parasitarios; además, es frecuente encontrar diferentes patógenos en el mismo proceso, considerándose por tanto de naturaleza plurietiológica. Ante un brote de diarreas, el diagnóstico rutinario suele incluir los patógenos más reconocidos; no obstante, en los últimos años se han identificado otros agentes emergentes causantes de diarrea, como por ejemplo el Norovirus bovino (BNoV, familia *Caliciviridae*) o el Torovirus bovino (BToV, familia *Coronaviridae*) (Cho y Yoon, 2014). En relación a estos dos virus, en España no se dispone de datos acerca de su presencia y relevancia en casos de diarrea en el ganado vacuno. Por tanto, el objetivo principal del presente trabajo fue estudiar la presencia de BNoV y BToV sobre muestras fecales de terneros con diarrea de diferentes regiones de España utilizando diferentes ensayos de qPCR, así como intentar relacionar epidemiológicamente los resultados con la edad de los animales y valorar la concordancia existente entre los distintos ensayos empleados para cada virus.

En este estudio se incluyeron 91 muestras fecales de terneros con diarrea de hasta cuatro meses de edad, que se dividieron en dos grupos (<15 días y >15 días). Las muestras fueron recogidas por veterinarios clínicos de diferentes partes de la península, considerándose presencia de diarrea cuando las heces presentaban una consistencia menor a la normal, desde líquida hasta blanda/pastosa, además de afectación del estado general. Para cada muestra se procedió a la extracción de ARN y a continuación se analizaron mediante qPCR para determinar la presencia de BNoV (genogrupo III) y BToV. Para el análisis mediante qPCR se emplearon dos kits de diagnóstico comerciales para cada virus: EXOone Bovine Norovirus oneMIX y EXOone Bovine Torovirus oneMIX de EXOPOL S.L. (Zaragoza, España), y ViroReal Kit Bovine Norovirus y ViroReal Kit Bovine Torovirus de Ingenetix GmbH (Viena, Austria). Las muestras se consideraron positivas con al menos un resultado positivo a cualquiera de los dos kits de qPCR. Los datos resultantes se emplearon para calcular la prevalencia, así como para evaluar la relación entre la presencia de virus y los dos grupos de edad mediante el test Chi-cuadrado. Por último, se evaluó la concordancia de diagnóstico entre los dos kits de qPCR empleados para el análisis de cada patógeno, utilizando para ello el estadístico Kappa.

La prevalencia de BNoV (G.III) en las muestras analizadas fue de 46,2%, con algunas diferencias en cuanto a la detección en función del kit utilizado (23/91 mediante ViroReal y 42/91 mediante EXOone). En el caso de BToV, la prevalencia obtenida fue de 13,2%, sin diferencias en cuanto a la detección independientemente del ensayo empleado, puesto que ambos kits detectaron como positivos los mismos animales (12/91). Además, hay que mencionar que en seis animales se detectaron ambos virus (6,6%). En relación a la edad, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de edad y la presencia de BNoV o BToV (p>0,05 en ambos casos). Por último, el análisis de concordancia entre los kits de diagnóstico utilizados para la detección de estos dos virus mostró una concordancia moderada en el caso de BNoV (k=0,59; p<0,05), mientras que en el caso de BToV la concordancia fue perfecta (k=1; p<0,05).

Los resultados obtenidos en este estudio indican que tanto el BNoV G.III como el BToV son dos patógenos frecuentes en muestras de terneros con diarrea en España, presentando especialmente el BNoV G.III una elevada prevalencia. Sin embargo, hay que señalar como limitación de este estudio que sería también necesario evaluar la prevalencia de dichos virus en grupos de animales sanos de cara a poder establecer una posible relación causal. Por tanto, la presencia de estos virus en casos de animales con diarrea no debe interpretarse estrictamente como causa de la misma ya que, además, existe una gran multitud de patógenos entéricos y en numerosas ocasiones existen coinfecciones por más uno de ellos (Cho *et al.*, 2013). En el caso de BNoV, diferentes trabajos experimentales han demostrado su capacidad de producir enfermedad (Otto *et al.*, 2011; Jung *et al.*, 2014), aunque también han sido descritos en animales sanos (Jor *et al.*, 2010); por otro lado, el BToV ha sido descrito en brotes de diarrea de animales jóvenes así como también de adultos (Scott *et al.*, 1996; Aita *et al.*, 2012). En relación a las técnicas de qPCR utilizadas, hay que mencionar las diferencias encontradas en relación al BNoV, detectándose casi el doble de animales positivos con el kit EXOone en comparación con el kit ViroReal, incluyendo además todos aquellos que habían resultado positivos a éste último. Estas diferencias son probablemente debidas al diseño de los primers/sondas empleados por ambos kits, lo que indicaría o bien una mayor sensibilidad por parte del kit EXOone o bien una menor especificidad del mismo. Por tanto, sería necesario realizar la secuenciación de dichas muestras para revelar si las secuencias detectadas con ambos kits se corresponden efectivamente con BNoV.

Como conclusión, sería necesario realizar más estudios sobre la posible implicación directa de estos virus en procesos entéricos y su relación con otros agentes causantes de diarrea; no obstante, dada la elevada presencia de ambos en muestras de nuestro país se debe reflexionar sobre la necesidad de incluir estos patógenos emergentes en los paneles diagnósticos de rutina.

Este trabajo está financiado por el Proyecto de Investigación AGL2016-76034P (MICINN), por las ayudas para la Consolidación y Estructuración de Grupos de Referencia Competitiva (GRC2015/003, Xunta de Galicia) y Consolidación y Estructuración de unidades de investigación competitivas-Redes (2017-PG117, Xunta de Galicia) y por EXOPOL, S.L.

Referencias

Aita, T., Kuwabara, M., Murayama, K., Sasagawa, Y., Yabe, S., Higuchi, R., Tamura, T., Miyazaki, A., Tsunemitsu, H., 2012. Characterization of epidemic diarrhea outbreaks associated with bovine torovirus in adult cows. Arch. Virol. 157, 423–431.

Cho, Y.-I., Han, J.-I., Wang, C., Cooper, V., Schwartz, K., Engelken, T., Yoon, K.-J., 2013. Case–control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. Vet. Microbiol. 166, 375–385.

Cho, Y., Yoon, K.-J., 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. J. Vet. Sci. 15, 1-17.

Jor, E., Myrmel, M., Jonassen, C.M., 2010. SYBR Green based real-time RT-PCR assay for detection and genotype prediction of bovine noroviruses and assessment of clinical significance in Norway. J. Virol. Methods 169, 1–7.

Jung, K., Scheuer, K.A., Zhang, Z., Wang, Q., Saif, L.J., 2014. Pathogenesis of GIII.2 bovine norovirus, CV186-OH/00/US strain in gnotobiotic calves.

Otto, P.H., Clarke, I.N., Lambden, P.R., Salim, O., Reetz, J., Liebler-Tenorio, E.M., 2011. Infection of calves with bovine norovirus GIII.1 strain Jena virus: an experimental model to study the pathogenesis of norovirus infection. J. Virol. 85, 12013–21.

Scott, F.M., Holliman, A., Jones, G.W., Gray, E.W., Fitton, J., 1996. Evidence of torovirus infection in diarrhoeic cattle. Vet. Rec. 138, 284–5.

VETERINARIOS Y GRANJEROS: INVESTIGANDO OPINIONES Y EXPERIENCIAS SOBRE LA IMPLEMENTACIÓN DE MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN GRANJAS DE LECHE

Moya S, Allepuz A, Benavides B, Tirado F, Espluga J, Casal J, Yus E, Diéguez J

The application of biosecurity measures owns a central role in disease prevention. Knowing which biosecurity measures are used, how they are applied, and which elements can limit their correct submission are fundamental to elaborate strategies that allow the optimization of them. Different issues may affect the actual application of biosecurity measures including psychological and sociological factors, economic limitations and inherent causes related to the structures and facilities present in the farm.

This study is part of a broad project aimed to evaluate the biosecurity measures in dairy farms. In a first step, we have conducted several semi-structured interviews with different dairy veterinarians and farmers from north-western and north-eastern Spain to know their opinion and experiences about main factors that limit the application of biosecurity measures.

Preliminary results showed that there is room for improvement, except for those measures applied during milking routines. The entry of infected animals and external agents was perceived as an important route of disease introduction, but the application of measures to reduce this risk are usually low. The lack of vision regarding the economic return of the investment in biosecurity, absence of knowledge about the epidemiology of the infectious diseases and a general lack of awareness about biosecurity were described as important barriers to implement biosecurity measures. In addition, the different interviewees agreed on the absence of communication about biosecurity between veterinarians and farmers except for situation of a disease outbreak, but not as a usual routine for disease prevention.

Finally, three different profiles of farmers were described in relation to biosecurity: the very unprofessional farmers that will end up disappearing, others more professionals, who even being sceptical of the utility of investing in biosecurity could be willing to apply some measures, and those who believe that this type of measures should be applied.

Therefore, there should be a joint and continuous work between veterinarians and farmers to apply certain biosecurity measures depending on the reality of each of the farms (prioritization). For one hand, veterinarians could considerer the opinion and experience of the farmers to apply effective measures. On the other hand, farmers could considerer the potential of the veterinarians in their farms, not only in the situation of a disease outbreak, but beyond a preventive action or economic return. Although it is complex to attempt to persuade both, work teams can be established with direct participation and intervention of both, considering all the opinions, experiences, advices and suggestions to broaden and generate awareness and knowledge about biosecurity. All this to establish minimum measures and advance in tune towards an adequate risk management, hoping to increase the number of farmers who believe that biosecurity measures should be applied.

IMPLICACIÓN DE ENTEROPATÓGENOS PARASITARIOS EN LA DIARREA NEONATAL DEL TERNERO

Díaz P, Prieto A, Conde M, Pérez A, Remesar S, López G, Díaz-Cao JM, Fernández G, Gómez H, Panadero R, López CM, Quintela LA, Diez-Baños P, Ares E, Morrondo P

Las diarreas neonatales constituyen un problema grave y muy frecuente en los terneros lactantes, originando cuantiosas pérdidas económicas directas e indirectas en las explotaciones. Se trata de un proceso multifactorial, causado por enteropatógenos bacterianos, víricos o parasitarios que pueden actuar aisladamente o combinados. Aunque se han realizado numerosos estudios sobre la implicación de agentes parasitarios en la diarrea neonatal del ternero, son escasos aquellos que realizan un abordaje integral del proceso, analizando la posible acción conjunta de los mismos. Por este motivo, los objetivos de este trabajo fueron identificar los diferentes agentes parasitarios presentes en terneros con diarrea neonatal y estudiar sus asociaciones, así como establecer la posible influencia de dos variables intrínsecas (edad y consistencia de las heces) sobre su porcentaje de infección. Para ello se recogieron 84 muestras fecales de terneros menores de 30 días de edad que presentaban diarrea y pertenecían a 48 explotaciones de Galicia. La presencia de coccidios eiméridos y nematodos se evaluó mediante el método cuantitativo de McMaster; la identificación específica de *Eimeria* se llevó a cabo mediante el análisis morfométrico de al menos 100 ooquistes esporulados por muestra. La identificación de quistes de *Giardia* spp. y ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se realizó con una técnica de inmunofluorescencia directa (IFAT) comercial (Aqua Glo G/C, Waterborne Inc., EE.UU.); en este caso las formas parasitarias se concentraron previamente mediante una técnica de sedimentación difásica.

En las muestras analizadas se identificaron los protozoos *Cryptosporidium* spp. (54,8%), *Giardia* spp. (19,1%) y *Eimeria* spp. (11,9%), así como el nematodo *Toxocara vitulorum* (1,2%). Estos resultados revelan que estos parásitos están involucrados en un elevado porcentaje (64,3%) de las diarreas que afectan al ternero neonato, especialmente *Cryptosporidium* spp., aunque no se puede descartar la presencia de coinfecciones con otros enteropatógenos víricos o bacterianos. Las infecciones simples fueron las más frecuentes (72,2%), seguidas de las dobles (20,4%), y las triples (7,4%). La asociación más común fue la integrada por *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. Además, se identificaron 9 especies de *Eimeria*, incluyendo *E. bovis* (33,7%) y *E. zuernii* (13,7%), que son altamente patógenas; asimismo se observó una elevada frecuencia de *E. ellipsoidalis* (35,7%) y *E. auburnensis* (11,8%), mientras que *E. alabamensis, E. canadensis, E. cylindrica, E. subspherica* y *E. wyomingensis* se detectaron de forma ocasional. Todas las infecciones por coccidios estuvieron integradas por 2-6 especies, siendo las asociaciones quíntuples las más frecuentes.

Los porcentajes de infección por granja fueron muy similares a los individuales debido al reducido número de muestras recogidas en cada una de ellas (media= 1,6 muestras/explotación; máximo= 7).

El ternero más joven infectado por *Cryptosporidium* spp. tenía 3 días de edad. Los porcentajes de infección por este parásito fueron elevados y siempre superiores al 40,0% en todos los rangos de edad estudiados, aunque las más reducidas se observaron en los animales de menos de 1 semana de vida (43,9%). Posteriormente, los porcentajes se incrementaron, observándose el pico de prevalencia en la segunda (69,2%) y tercera (66,7%) semanas de vida, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($?^2$= 3,145; p= 0,370). *Giardia* spp. se halló a partir de los 4 días de vida, y su prevalencia se incrementó progresiva y significativamente con la edad de los animales ($?^2$= 10,154; p= 0,017), desde el 4,9% de los más jóvenes hasta el 40,0% en los de 22-30 días. Los ooquistes de coccidios se comenzaron a detectar en terneros de 7 días. El porcentaje de animales infectados por *Eimeria* spp. también aumentó significativamente con la edad ($?^2$= 21,26; p<0,001), observándose los valores más elevados en los animales de 4 semanas de vida (50%) mientras que en los más jóvenes la prevalencia osciló entre el 2,4% y el 7,7%. Sólo se identificó una muestra positiva a *T. vitulorum*, obtenida de un animal de 28 días de vida, lo que indica que el ternero se infectó poco después del nacimiento. Se ha descrito que este nematodo es poco común en Europa (Venjakob *et al.*, 2017), por lo que nuestros resultados confirman su escasa importancia en la etiología de la diarrea neonatal del ternero en nuestro continente.

El porcentaje de muestras positivas a *Cryptosporidium* spp. fue superior en las heces líquidas que en las de consistencia pastosa, al contrario que en *Giardia* spp., *Eimeria* spp. y

vitulorum, pero estas diferencias en ningún caso fueron significativas. Tampoco se halló una asociación entre el número de patógenos parasitarios y la eliminación de heces líquidas.

Los porcentajes de infección por *Cryptosporidium* spp concuerdan con los obtenidos por otros autores en España, que oscilaron entre el 52,3% y el 76% (Quílez *et al.*, 1996, 2008; de la Fuente *et al.*, 1999; Soilán, 2014; García Meniño *et al.*, 2015), demostrando que este protozoo es el enteropatógeno más frecuentemente involucrado en la aparición de diarreas en terneros menores de un mes de vida.

Debido a que *Giardia* y *Eimeria* son especialmente importantes a partir de las 4 semanas de vida (Faber *et al.,* 2002; Gillhuber *et al.*, 2014), los porcentajes observados en este estudio son más reducidos que los observados en otros estudios que incluyen animales de mayor edad (Faber *et al.,* 2002; Enemark *et al.,* 2013; Forslid *et al.,* 2015). Nuestros resultados indican que, aún así, no se puede descartar su presencia en terneros menores de un mes.

Este trabajo está financiado por el Proyecto de Investigación AGL2016-76034P (MICINN) y por Ayudas para la Consolidación y Estructuración de Grupos de Investigación (Redes 2017- PG117 y GRC003/2015, Xunta de Galicia).

de la Fuente *et al.* (1999). Veterinary Parasitology, 80: 179–185.
Enemark *et al.* (2013). *Parasitology Research*, 112: 169–176.
Faber *et al.* (2002). *Veterinary Parasitology*, 104: 1–17.
Forslid *et al.* (2015). *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 1–2: 16–20. García-Meniño *et al.* (2015). *Boletín de ANEMBE*, 108: 33-37.
Gillhuber *et al.* (2014). *BMC Research Notes*, 7: 1-9.
Quílez *et al.* (1996). *Veterinary parasitology*, 66: 139–146.
Quílez *et al.* (2008). *Parasitology*, 135: 1613-1620.
Soilán (2014). Tesis Doctoral, Lugo. Universidade de Santiago de Compostela. Venjakob *et al.* (2017). *Parasitology Research,* 116: 1085-1088.

QUERATOCONJUNTIVIS INFECCIOSA BOVINA: ¿DESCUIDAMOS OTROS PATÓGENOS?

Arnal JL, Benito A, Chacón G, Fernández A, Serrano JD, Barros J, Sanz C, Alzuguren O

INTRODUCCIÓN

La **queratoconjuntivitis infecciosa bovina (QIB)** es una enfermedad multifactorial con distribución mundial que puede manifestarse en todas las etapas del desarrollo y está presente tanto en sistemas intensivos como extensivos. Esta enfermedad se caracteriza por la aparición de blefaroespasmo y conjuntivitis con lagrimeo intenso seguido de opacidad corneal. Se observa una mayor incidencia de la enfermedad en los meses cálidos del año debido a la exposición de los animales a la radiación UV *(Vogelweid, 1986)* y a la aparición de moscas que actúan como vectores. No obstante, la estabulación invernal con el consiguiente contacto más estrecho entre individuos favorece la aparición de nuevos brotes debido a su transmisión directa a través de secreciones oculonasales. Aunque no es una enfermedad letal, origina un perjuicio económico considerable, ya que los animales no acceden a la comida con normalidad, lo que origina descensos en las tasas productivas: producción láctea o pérdida de peso.

Moraxella bovis es considerado como el único agente infeccioso primario de esta patología *(Henson, 2010)*; sin embargo, otros agentes bacterianos y víricos tales como diferentes especies de *Moraxella*, *Mycoplasma*, C*hlamydia* y Herpesvirus bovino tipo I (BHV-1) han sido descritos entre otros, como gérmenes secundarios. Publicaciones más recientes *(Angelos, 2010)* establecen pruebas circunstanciales que otorgan un papel mucho más relevante del descrito hasta ahora para algunos de estos microorganismos. El objetivo del presente estudio es valorar la presencia de los principales agentes infecciosos implicados en QIB mediante paneles qPCR multiparamétricos, así como describir potenciales asociaciones entre los mismos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una colección de 30 casos con signos compatibles con QIB procedentes de 13 provincias españolas que habían sido remitidos al laboratorio entre Junio del 2015 y Diciembre del 2017 fueron analizados. Las muestras consistían en hisopos oculares analizados de forma individual (n=6) o en *pool* de hasta 5 individuos (n=24). Tras la extracción de los ácidos nucleicos se utilizaron ensayos qPCR desarrollados y validados en el propio laboratorio para la detección de los siguientes agentes: *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovoculi*, *Mycoplasma conjunctivae*, *Chlamydophila abortus, Chlamydia spp.* y BHV-1. Como el tamaño muestral (n=30) era reducido, los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el Test exacto de Fisher en busca de posibles asociaciones significativas.

RESULTADOS

En el 93% de los casos se evidenció la presencia de al menos uno de los microorganismos estudiados. Tan sólo 2 casos obtuvieron resultado negativo para todos los patógenos investigados. *Mycoplasma bovoculi* fue el microorganismo más detectado (87%), seguido por *Moraxella bovoculi* (83%), *Moraxella bovis* (70%), *Chlamydiaceae* (13%), *Mycoplasma bovis* (7%) y *Mycoplasma conjunctivae* (3%). *Chlamydophila abortus* y BHV-1 no fueron detectados.

Los resultados obtenidos se visualizan en detalle en la tabla adjunta.

Parámetro	Positivos	POS (%)	Cq inferior	Cq superior
Moraxella bovis	21	70	22,63	36,69
Moraxella bovoculi	25	83,3	21,65	39,18
Moraxella spp.	26	86,6	21,65	39,18
Mycoplasma bovis	2	6,6	32,2	35,3
Mycoplasma bovoculi 26	86,6	23,77	36,80	
Mycoplasma conjunctivae	1	3,3	23,62	
Chlamydiaceae	4	13	35,32	39,64
C. abortus	0	0		
BHV-1	0	0		

Atendiendo a las coinfecciones, destacamos que en el 90% de los casos positivos a *Moraxella bovis* encontramos presencia simultánea de *Moraxella bovoculi* y *Mycoplasma bovoculi*. El test Fisher encontró una asociación significativa ($p<0,05$) entre la presencia de *Moraxella bovis* y *Moraxella bovoculi*; así como una asociación muy significativa ($p<0,01$) entre la presencia de *Moraxella spp*. y *Mycoplasma bovoculi*. Merece la pena mencionar que *Mycoplasma conjunctivae* fue detectado en 1 caso (Cq=23,62), constituyendo el único microorganismo detectado en dichas muestras. En el 16% del total de casos (5 de 30) se encuentra presencia de *Moraxella bovoculi* y ausencia de *Moraxella bovis*.

DISCUSIÓN

Los datos mostrados avalan que *Moraxella bovis* tiene un papel principal como etiología infecciosa de la QIB. No obstante, un porcentaje no despreciable de casos con signos compatibles con QIB resultaron negativos a la presencia de dicha bacteria. Es por esto que, apuntamos que *Moraxella bovoculi* podría bajo ciertas circunstancias tener un rol relevante en el desarrollo de la enfermedad (Angelos, 2010). Nuestros hallazgos, en línea con otros anteriormente publicados *(Schnee, 2015)*, destacan la masiva detección de *Mycoplasma bovoculi*. La asociación significativa entre este germen y *Moraxella spp.* es evidente y sería compatible con un agravamiento clínico ya descrito anteriormente por otros autores *(Rosenbusch, 1983)*.

A la vista de los resultados, parece razonable no acotar el diagnóstico de QIB a *Moraxella bovis* y aconsejamos la realización de paneles diagnósticos que incluyan otros parámetros. La prevención de la enfermedad mediante la administración de autovacunas está ampliamente aceptada *(Angelos, 2010)* y encontramos recomendable la inclusión de *Moraxella bovoculi* si fuera encontrada.

CONCLUSIÓN

El presente estudio confirma la coinfección de *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi* y

Mycoplasma bovoculi y recomienda la investigación de QIB a través de paneles multiparamétricos que resuelvan de una forma más completa el cuadro diagnóstico.

CARACTERIZACIÓN DEL ESTATUS SANITARIO FRENTE A DIARREA VÍRICA BOVINA Y RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD APLICADAS EN GRANJAS LECHERAS DE CATALUÑA Y GALICIA

Benavides B, Allepuz A, Yus E, Casal J, Jubert A, Molins M, Lázaro M, Aquile B, Eiras C, Arnaiz I, Moya S, Diéguez J

INTRODUCCIÓN

Este trabajo es la primera etapa de un proyecto que pretende desarrollar una herramienta de análisis para valorar el riesgo de introducción de los virus de Diarrea Vírica Bovina (BVD) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en granjas lecheras en función de la aplicación de medidas de bioseguridad. El objetivo de este estudio fue caracterizar el estatus sanitario respecto a BVD e IBR, de las 34 y 44 granjas lecheras situadas en Cataluña y Galicia respectivamente, que participan de manera voluntaria en el proyecto, así como conocer las medidas de bioseguridad que aplican.

METODOLOGÍA:

La presencia de anticuerpos frente a BVD se determinó mediante ELISA de anticuerpos anti-p80 y en aquellas explotaciones con prevalencias elevadas (>30%) se evaluó la presencia de antígeno mediante PCR en tanque de leche. De forma paralela, se evaluó la presencia de anticuerpos BVD P80 en los animales entre 12 y 24 meses en aquellas granjas con vacuna BVD inactivada o que no vacunaban. Para IBR, en Cataluña, se tomaron muestras aleatorias de animales mayores a 24 meses que fueron analizadas por ELISA comercial. En el caso de Galicia se emplearon muestras de leche de tanque para determinar el nivel de exposición de rebaño mediante ELISA de anticuerpos, con muestreo individual de suero de novillas de 9 a 24 meses en caso de que la muestra de tanque indicara un elevado nivel de exposición al virus. En caso contrario (bajo nivel de exposición) se realizaba un muestreo de sueros individuales a todo el efectivo para determinar si la explotación podía considerarse libre.

Para conocer las medidas de bioseguridad aplicadas, se realizó una encuesta epidemiológica en la que se preguntó acerca de las diferentes medidas de bioseguridad aplicadas en relación a la entrada de animales, vehículos de transporte de ganado, otros vehículos, localización, personal, visitas y bioseguridad interna.

RESULTADOS:

En el año 2017 se analizaron muestras de 34 y 44 granjas de Cataluña y Galicia respectivamente. El 50% y el 18% de explotaciones de Cataluña y Galicia respectivamente tenían un perfil compatible con la existencia de circulación vírica actual o reciente para BVD. Para IBR, en Cataluña el 63% de las explotaciones fueron positivas con una prevalencia dentro de granja muy variable (rango de 0,7% a 88,7%) y mediana del 12,8%. En Galicia solo una de las 34 granjas mostraba un perfil serológico compatible con circulación viral reciente. Las restantes eran libres o sólo los animales de mayor edad eran seropositivos.

El 35% de las granjas en Cataluña y el 25% en Galicia entran animales del exterior; de ellas en Cataluña, el 30% hace pruebas de BVD mientras que para IBR sólo el 7%, mientras que en Galicia se analizan en todos los casos frente a ambos virus antes o después de la entrada. El origen de los animales es mayoritariamente de provincias cercanas o de otros países (como Francia y Holanda) con frecuencia sin conocer el estatus sanitario de las granjas de origen. La existencia de cuarentena es poco frecuente en Cataluña -y en las que existe se encuentra dentro de la misma granja- y completamente ausente en Galicia.

Los vehículos usados para el transporte de animales son ex-

ternos en el 48% de las granjas de Cataluña, los cuales son usados para transporte de terneros y animales que van a matadero. En Galicia son mayoritariamente externos y normalmente portan animales de otras granjas. El 37% de las granjas comparte vehículos para el transporte de purines y estiércol en Cataluña, mientras en Galicia esto ocurre en el 27% (purín) y 21% (estiércol) de los casos. Es común en ambas regiones que los camiones de alimentación y leche entran a las granjas y que el de alimentación se comparta entre granjas asociadas a la misma cooperativa. En lo referente a las instalaciones, el 35% y el 4% de las granjas poseen cerco perimetral completo (datos de Cataluña y Galicia, respectivamente). Sin embrago, solo el 13% proporcionan botas y ropa a los visitantes de la granja en Cataluña mientras que ninguna lo hace en Galicia. Es especialmente frecuente en Galicia la presencia de otras ganaderías de vacuno de leche o carne en las cercanías (un km o menos). Respecto a los trabajadores, el 95% de las granjas catalanas cuenta con operarios exclusivos con rutinas de trabajo de acuerdo a las necesidades diarias; en Galicia existen fundamentalmente granjas familiares y solo el 11% cuenta con personal externo.

CONCLUSIONES

En la población estudiada la situación sanitaria frente a BVD e IBR e en Cataluña es menos favorable que en Galicia lo que posiblemente esté relacionado con la existencia de programas voluntarios de control en esta Comunidad desde hace 15 años. En ambas zonas la aplicación de medidas de bioseguridad tiene margen de mejora, en especial en relación a la entrada de animales y a aquellas medidas dirigidas a bloquear el contacto indirecto de animales entre diferentes granjas.

CALICIVIRUS ENTÉRICOS EN LAS DIARREAS DEL TERNERO: DESARROLLO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA SU IDENTIFICACIÓN Y DIFERENCIACIÓN

Benito A, Arnal JL, Serrano JD, Barrios J, Chacón G, Balsega R

INTRODUCCCION

La diarrea en terneros es una enfermedad frecuente y una de las principales causas de pérdidas económicas para la industria bovina en todo el mundo. Aunque múltiples agentes virales y bacterianos están reconocidos por causar o contribuir con esta patología, el abanico de agentes relacionados está siempre en constante evolución. Recientemente, varios estudios han asociado la presencia de calicivirus entéricos como el Norovirus genotipo III (NoVGIII) y el Nebovirus con problemas diarreicos en terneros en varios países (Kaplon 2011, Candido 2016, Ferragut 2016). Con el fin de disponer de adecuadas herramientas para evaluar la circulación de estos agentes se procedió a desarrollar unos ensayos de PCR en tiempo real (qPCR) que permitan la identificación confiable de NoVGIII y Nebovirus en esta especie animal.

MATERIALES Y METODOS

Con las secuencias disponibles en el GenBank se diseñaron dos ensayos de qPCR para la detección específica de NoVGIII y Nebovirus, usando como dianas el gen RdRp y de la cápside respectivamente. Para la validación de estos ensayos se usó un panel de especificidad de 28 agentes microbiológicos, incluyendo las principales causas de problemas digestivos en bovinos; así como un panel de muestras clínicas (n=57) que fueron evaluados adicionalmente con otros kits comerciales de qPCR para NoVGIII y Nebovirus (Ingenetix, GmBH) con el fin de determinar la concordancia diagnóstica (estadístico Kappa). Un oligonucleótido sintético cuantificado de cada gen diana fue usado como control positivo y para determinar los límites de detección de los nuevos ensayos.

Un total de 93 casos clínicos de terneros (<6 meses) con problemas digestivos y procedentes de 10 CC.AA. diferentes fueron evaluados para la presencia de estos calicivirus. Las muestras clínicas incluían heces (n=42) intestinos (n=39) e hisopados rectales (n=12), y fueron procesadas de forma individual o en pooles (hasta 5 muestras). La presencia de Rotavirus A, BCoV, Pestivirus y Cryptosporidum parvum fueron evaluadas adicionalmente en cada muestra mediante ensayos específicos de qPCR (EXOone). Un protocolo previamente descrito para secuenciar el gen RdRp de NoVGIII y Nebovirus (Smiley 2003), fue utilizado para evaluar 6 muestras positivas de calicivirus entéricos bovinos con los nuevos diseños de qPCR. Las secuencias fueron posteriormente analizadas mediante el uso de varios programas bioinformáticos (Chromas Lite 2.1, MAFFT, BLASTn).

RESULTADOS

En comparación al kit comercial, el ensayo de Nebovirus demostró una concordancia perfecta (Kappa=1), con una variación promedio del ciclo umbral (Cq) de 1,5 ciclos a favor del primero. Por otro lado, para el caso de el NoVGIII la concordancia entre ambos ensayos fue moderada (Kappa=0,49), encontrándose 15 casos positivos adicionales y una variación del Cq de 4,1 ciclos a favor del nuevo diseño. El límite de detección obtenido para el ensayo de NoVGIII y el de Nebovirus fue de 50 copias y 100 copias/reacción respectivamente. Adicionalmente, todos los agentes evaluados en el panel de especificidad resultaron negativos en ambos ensayos. La secuenciación genética del gen RdRp fue obtenida para 3 muestras positivas a Nebovirus y 3 de NoVGIII, incluida una muestra negativa al kit comercial. Estas secuencias demostraron >81% de homología a secuencias de calicivirus entéricos bovinos depositadas en el GenBank, lo que soporta los resultados previos por qPCR.

El 35%(33/93) de los casos clínicos fue positivo a NoVGIII y el 40%(37/93) a Nebovirus. Sin embargo, en el 59% (55/93) del total de casos evaluados se identificó la presencia de al menos uno de estos calicivirus. Adicionalmente, en el 27% (15/55) de los casos positivos hubo co-infección por ambos agentes aunque no se encontró una asociación estadística significativa (p>0,05). La identificación molecular de estos calicivirus fue demostrada en casos provenientes de 9 de 10 CC.AA. y en los tres tipos de muestras evaluadas (heces 69%, intestino 49%, hisopados 58%), ya sea en pool (73%) o en individual (52%). Por otro lado, aunque la presencia de calicivirus fue observada principalmente en co-infección con otros agentes infecciosos, en cuatro de los casos clínicos estos calicivirus fueron el único agente identificado dentro del panel de patógenos evaluados.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La patogenicidad del NoVGIII y Nebovirus ha sido demostrada previamente en estudios de infección experimental (Jung 2014, Otto 2011, Smiley 2002); sin embargo, estos calicivirus no son consdierados usualmente en el diagnóstico de diarreas en terneros, probablemente por la escasa información disponible y/o la falta de adecuadas herramientas de diagnóstico. En este estudio describimos la validación de dos ensayos de qPCR para la identificación sensible y específica de NoVGIII y Nebovirus; y demostramos adicionalmente su presencia en un alto porcentaje de animales (59%) con problemas digestivos procedentes de diversas CC.AA. Considerando la etiología multifactorial de los procesos diarreicos, nuestros resultados y la descrita patogenicidad del NoVGIII y Nebovirus, sugerimos la inclusión de estos calicivirus en el diagnóstico rutinario de diarreas en terneros en nuestro país.

DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE LEPTOSPIROSIS EN GRANJAS DE VACAS LECHERAS EN EL NORESTE DE ESPAÑA

Puigcorbé I

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis en bovinos es una enfermedad epidemiológicamente compleja causada por bacterias del género *Leptospira spp*. Los signos clínicos son variables, pudiéndose presentar abortos en el último tercio de gestación, fallo reproductivo, mamitis, e incluso hipertermia, hematuria-hemoglobinuria y descenso de la producción en casos agudos (Alder *et al*.,2010). Esta enfermedad es una zoonosis de distribución mundial (Bharti *et al*., 2003) por lo que a las posibles pérdidas a nivel zootécnico debidas a la disminución de producción, fracaso reproductivo y aumento de la tasa de eliminación; se le añade un importante riesgo a nivel sanitario.

CASO CLÍNICO

En octubre de 2016 una granja situada al noreste de España manifestó un brote de abortos en el último tercio de gestación, caída repentina de la producción de leche, incremento del recuento de células somáticas y hemoglobinuria en algunos individuos. Se decidió realizar una serología básica de abortos donde se incluyen la Diarrea Vírica Bovina (BVD), la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), la Neosporosis y la causada por el virus de Schmallenberg (SBV). En todos los casos los resultados laboratoriales fueron negativos para estas enfermedades.

No obteniendo resultados claros del caso, a principios de diciembre del 2016 en una granja situada a varios kilómetros de distancia aparecieron animales con la misma sintomatología. Una vez más se llevó a cabo un panel analítico básico de abortos de las enfermedades anteriormente citadas, el cual no dió una respuesta clara a la presente situación de la granja.

Teniendo en cuenta la clínica de los animales, se decidió analizar Anaplasma y Piroplasmosis; y realizar una serología más amplia, detectándose dos serogrupos de Leptospira: *L. Pomona* y *L. Icterohaemorrhagiae*.

Una vez determinado el agente, se repitió la analítica en la primera granja, confirmándose también la presencia de estos dos serogrupos de *Leptospira*.

Durante los dos meses siguientes, aparecieron tres granjas más con la misma sintomatología, siendo positivas a *L. Pomona.* En enero del 2018, apareció una nueva granja.

Lo que parecía un caso aislado, se diseminó afectado a un total de 7 granjas.

El patógeno no se detectó con las primeras analíticas debido a que los paneles básicos de abortos no suelen ofrecer la detección de *Leptospira spp*. Para su detección se utilizó la microaglutinación en 37 sueros sanguíneos presentando todos altos títulos de *L. Pomona* y se utilizó rtPCR en vísceras, orina de animales afectados, placentas y fetos abortados. De los 7 abortos analizados se detectó el agente en 5 placentas y solo en un riñón de un fetus.

Se cree que el serogrupo causante de la enfermedad fue *L. Pomona* y que la positividad del serogrupo *L. Icterohaemorrhagiae* se debió a una reacción cruzada (Lang *et al*., 1959).

Se intentó cultivar la cepa de *L. Pomona* causante del brote para la elaboración de una autovacuna, pero no se logró aislar.

Una vez determinada la enfermedad, se desarrolló un protocolo de actuación basado en el diagnóstico y control de la enfermedad que se aplicó en todas las granjas con casos ya diagnosticados, granjas con sospechas clínicas y granjas cercanas al foco de la enfermedad.

- El control de la enfermedad se basó en:
- Vacunación en sábana con autovacuna comercial Syva frente a *Leptospira spp*. (Chiareli *et al*., 2012).
- Tratamiento antibiótico con oxitetraciclina de los animales con sintomatología clínica, y de las vacas secas, a modo profiláctico, para evitar posibles abortos.

Incrementar las medidas de bioseguridad para evitar la entrada de fauna silvestre en las granjas.

Tras la vacunación, la sintomatología remitió rápidamente hasta desaparecer.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la siguiente tabla se muestra la repercusión sobre los índices técnicos de esta enfermedad en una de las granjas afectadas:

Datos técnicos	Año 2016	Año 2017	Enero 2017	Febrero 2017
Producción (Leche/ vaca lactante y año) 1	2235L*	11434L*		
Leche vaca lactante/ día	36.94L*	34.21L*		
Leche vaca presente/ día	33.47L*	31.29L*		
Pico 45-100 DEL multíparas	48.57L*	47.31L*		
Pico 45-100 DEL primíparas	39.18L*	38.16L*		
Fertilidad 1a IA	37%	28%		
Terneros muertos al parto	6%	9%	23%	19%
Desplazamientos de abomaso	8%	13%	54%	
Metritis	17%	11%	54%	31%
Retención de placenta	13%	7%	34%	
% Eliminaciones <60d PP	8%	8%	18%	8%%
Eliminaciones	36%	39%	57%	47%

*Leche corregida a 3.5% de materia grasa y 3.2% de proteína

CONCLUSIONES

La leptospirosis es una enfermedad con importantes repercusiones a nivel productivo y reproductivo en granjas vírgenes y debería tenerse en consideración, especialmente, en abortos en el último tercio de gestación.

No se ha podido determinar la fuente de infección, pero se sospecha de un posible contagio por parte de la fauna silvestre, concretamente del jabalí (Arent *et al*., 2017).

Actualmente, se vacunan los animales anualmente de modo preventivo en todas las granjas que desarrollaron la enfermedad y en las colindantes, ya que la aparición de nuevos casos evidencia que el brote aún no está controlado.

BIBLIOGRAFIA

- Alder B. and Moctezuma A.P. (2010) Leptospira and leptospirosis. Veterinary microbiology. 140 (3-4): 287-296.
- Arent Z.J, Gilmore C., San-Miguel Ayanz J. M., Quevedo Neyra L., García-Peña F. J. (2017) Molecular Epidemiology of Leptospira Serogroup Pomona Infections Among Wild and domestic animals in Spain. Ecohealth 14: 48-57.
- Bharti, A., Nally, J., Ricaldi, J., Matthias, M., Diaz, M., Lovett, M., Levett, P.,Gilman, R.,
- Willig, M., Gotuzzo, J., 2003. Leptospirosis: a
- zoonotic disease of global importance. Lancet Infectious

Diseases 3, 757–771.

- Chiareli D., Cosate M.R.V., Leite R.C., Lobato F.C.F., Silva J.A., Teixeira J.F.B. & Marcelino
- A.P. 2012. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. Pesquisa Veterinária Brasileira. 32: 633-639.
- Fávero J.F., Araújo H.L., Lilenbaum W., Machado G., Tonin A.A., Baldissera M.D., Stefani
- L.M. & Silva A.S. 2017. Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. Microbial Pathogenesis. 107: 149-154.
- Lang RW, Morse E. Serologic cross reactions among leptospirae observed with sera from animals infected with Leptospira Pomona. Journal of Immunology 1959; 82: 471–476.

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INTOXICACIONES DEL GANADO VACUNO: SITUACIÓN EN ESPAÑA

García-Arroyo R, Puente E, Quiles A, Hevia ML, Míguez MP

En el contexto de falta de bases de datos públicas sobre las intoxicaciones del ganado de alcance nacional y con la finalidad de evaluar la importancia de la mortalidad por intoxicación alimentaria del ganado vacuno en España, se abordó este estudio a partir de los datos aportados por una entidad de seguros (Agroseguro S.A.) implantada en todo el territorio español, que ampara estas patologías y cuenta con un censo asegurado que representa el 25,71% del ganado vacuno reproductor y de recría de España, que diferenciando en función de la aptitud productiva supone el 13,39% del ganado de carne y el 57,08% del ganado de leche de España.

Para ello, se ha calculado la tasa de mortalidad por intoxicación alimentaria ocurridas en el censo de ganado bovino reproductor y de recría asegurado en España entre los años 2010 y 2014 en función de las variables: aptitud productiva, edad, sexo, época del año, Comunidad Autónoma, año del periodo y agente causal, y los resultados se han comparado con los obtenidos en un estudio anterior que comprende los años 2000 a 2005.

La tasa de mortalidad ha resultado mayor en los animales de aptitud cárnica (29,52 por 100.000), que en los animales de aptitud láctea (5,29 por 100.000). En cuanto a la edad de los animales, los reproductores de aptitud cárnica y los animales de recría de aptitud láctea, han sido los más afectados por las intoxicaciones, aunque no se apreciaron diferencias entre los animales de leche desde los 2 hasta 11 años de edad sujetos a un mismo manejo y en un mismo sistema de explotación. La época de mayor riesgo de intoxicación para el vacuno de carne ha sido el final del verano y el otoño, y para el ganado de leche la primavera. Respecto al sexo, las mayores tasas de mortalidad se observaron en hembras de carne y en machos de leche. En ninguna de las variables citadas se observaron diferencias con significación estadística entre ambos periodos de tiempo.

El análisis de la mortalidad en los años de cada periodo, revela que las tasas de mortalidad más altas o más bajas en el ganado de aptitud cárnica y en el de aptitud láctea no aparecen en los mismos años, en ninguno de los dos periodos. De igual forma, las Comunidades Autónomas con mayor tasa de mortalidad también son diferentes en los dos periodos tanto en ganado de carne, como en ganado de leche.

Los agentes causales se han clasificado en tres grupos: vegetales, no vegetales y de origen desconocido, y se han identificado 34 agentes causales diferentes en los dos periodos, 21 vegetales, causantes del 72,31% y del 63,08% de las muertes en cada periodo, y 13 no vegetales. El grupo que ha causado la mayor tasa de mortalidad en ganado de carne en las dos etapas fue el de vegetales (27,28 por 100.000 *vs* 21,28 por 100.000), destacando en ambos casos los helechos y las plantas con taninos, en este orden en el primer periodo y a la inversa en el segundo. Sin embargo, en ganado de leche, entre 2000 y 2005 no hubo diferencias entre grupos de agentes y en 2010-2014 la mayor tasa de mortalidad la provocaron los no vegetales, donde destacaron los metales pesados (2,39 por 100.000).

En conclusión, en España, la mortalidad por intoxicación en ganado vacuno reproductor y de recría es baja y se encuentra condicionada por la aptitud productiva del ganado y por el manejo. Debido a que los distintos sistemas en los que se explota el ganado, de forma general intensivo en leche y extensivo en carne; así como el manejo de los animales, condicionan el riesgo de padecer una intoxicación, por la distinta exposición que tienen a los agentes causales. En los casos del ganado reproductor de carne y de los animales de recría de leche, el mayor riesgo aparece en las épocas del año con menor producción herbácea, se asocia con situaciones de escasez de alimento que inducen el consumo de plantas con una dosis letal alta, como pueden ser los helechos o las plantas con taninos. Circunstancias que se podrían considerar predecibles. Por el contrario, las muertes por intoxicación en vacuno lechero reproductor, sujetos a un mayor control en el suministro de alimentos para poder satisfacer las necesidades nutritivas que permitan alcanzar las elevadas producciones de leche actuales, las muertes por intoxicación alimentaria ocurren de forma accidental, circunstancia no predecible.

Finalmente, hay que reseñar la importancia de este tipo de estudios desde la perspectiva de la Salud Pública, ya que la exposición de los animales de producción a sustancias tóxicas puede constituir un riesgo para el hombre al consumir alimentos derivados de dichos animales, como pone de manifiesto la aparición de ptaquilósido, sustancia tóxica del helecho, tanto en leche como en carne de ganado que previamente ha consumido helecho.

REPRODUCCIÓN - CALIDAD DE LECHE

SECADO SELECTIVO: DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA

Mallo J, Pico A, Redondo J, Sesto F

Debido a la creciente preocupación por las resistencias a los antimicrobianos sería necesaria una revisión práctica para hacer un uso responsable de los antibióticos y administrarlos tan sólo a los animales que realmente los necesitan. Igualmente los cambios en las dinámicas de infecciones y en la epidemiología de patógenos causantes de mamitis en granja, hacen que nos podamos plantear alternativas al secado en sábana (administrar antibióticos intramamarios a todos los animales).

Si miramos hacia los paises nórdicos vemos que el porcentaje de animales que recibe antibiótico intramamario en el secado es : Noruega 1-2%; Finlandia 20%; Suecia 25%; Dinamarca 6-7%.

En la bibliografía observamos que la prevalencia de infecciones intramamarias a nivel de cuarterón en el momento del secado es del 32-34.3%. A su vez si consideramos la formación del

tapón de queratina vemos que el 50% de los pezones permanecen abiertos 10 días después del secado, además un 23% de éstos continúan abiertos 6 semanas después del mismo.

La alternativa al secado en sábana sería el secado selectivo, aplicar las cánulas de secado antibióticas con un fin únicamente terapéutico. Es decir utilizar el mínimo antibiótico posible, pero tanto como sea necesario. La clave para su éxito es una eficiente detección de los animales con infección intramamaria, por eso necesitamos un método fácil y económico para identificarlos. La principal preocupación es un posible efecto negativo, de este secado selectivo, sobre la productividad y la salud de la ubre. Una pregunta que también tenemos que contestar es ¿ qué hacemos con los animales que no reciben antibiótico?

Métodos de selección de rebaños y de animales

Para plantearnos si en un rebaño podemos implementar el secado selectivo nos hacemos dos preguntas. La primera ¿existe un control adecuado de las mamitis subclínicas? La respuesta será afirmativa si el recuento de células somáticas histórico del tanque es inferior a 250.000. La segunda pregunta será ¿existen registros de control de las mamitis clínicas y subclínicas en la explotación? Si esta segunda pregunta también tiene una respuesta afirmativa pasaremos a seleccionar los animales que estarán exentos de cánulas antibióticas de secado.

Para seleccionar un animal para el secado selectivo nuestros criterios son que en los tres últimos controles de la lactación sus recuentos de células somáticas sean inferiores a

200.000 y que no presente episodios de mamitis clínicas durante los últimos 90 días de lactación.

Recomendamos que se aplique, a todos los animales en el momento del secado, un sellador interno

Ejemplo de dos explotaciones del noreste peninsular que en junio del 2016 instauran el secado selectivo.

CASO PRÁCTICO 1

350 animales en ordeño.Disponemos de registros de mamitis clínicas y subclínicas de los animales.

Cuando se inicia el secado selectivo continuamos aplicando un sellador interno.

	Secado selectivo (Jun 16- Dic 17)	Año previo
Recuento células somáticas tanque	< 250.000	< 250.000
Nuevas infecciones al parto	11.07%	11.81%
Curaciones secado	84.13%	70.93%
Mamitis clínicas 0-30 días en leche	3.82%	3.54%
Mamitis clínicas 31-100 días en leche	7.82%	7.67%
Periodo secado selectivo	**Animales sin antibiótico**	**Animales con antibiótico**
Mamitis clínicas al parto	0.65%	0.81%

El 71% de los animales (306 de 429) se secan sin antibióticos durante periodo secado selectivo, el 29% restante se consideran infectados y reciben cánulas de antibiótico.

CASO PRÁCTICO 2

3130 animales en ordeño.

Disponemos de registros de mamitis clínicas y subclínicas de los animales desde el momento en el que empezamos el secado selectivo. Con anterioridad registros poco fiables.

El sellador interno se empieza a aplicar en el momento en el que se inicia el secado selectivo.

	Secado selectivo (Jun16- Dic 17)	Año previo
Recuento células somáticas tanque	< 250.000	< 250.000
Nuevas infecciones al parto	13.40%	24.64%
Curaciones secado	64.71%	58.33%
Mamitis clínicas 0-30 días en leche	9.90%	Sin datos
Mamitis clínicas 31-100 días en leche	16.49%	Sin datos
Periodo secado selectivo	Animales sin antibiótico	Animales con antibiótico
Mamitis clínicas al parto	1%	0%

El 68% de los animales (100 de 147) se secan sin antibióticos durante periodo secado selectivo, el 32% restante se consideran infectados y reciben cánulas de antibiótico.

DISCUSIÓN

El hecho de no administrar antibiótico en el secado a los animales libres de infección no provoca un empeoramiento de las dinámicas de infecciones durante éste, ni de los recuentos de células somáticas de tanque. Asimismo los valores de mamitis clínicas al parto y durante el primer mes de lactación, cuando podemos compararlos, tampoco se ven afectados negativamente.

CONCLUSIONES

Según las características del rebaño el secado selectivo es una alternativa viable al secado tradicional en sábana.

Con unos buenos criterios de selección el secado selectivo no afecta negativamente ni a la productividad ni a la salud de la ubre de los animales.

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA Y PARÁMETROS DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE DE TANQUE EN GRANJAS DE BOVINO LECHERO EN GALICIA

Saavedra FJ, Yus E, Diéguez FJ

INTRODUCCIÓN

La cantidad y la calidad del agua utilizada en las explotaciones de vacuno lechero constituyen uno de los pilares básicos para obtener una leche de calidad, ya que la limpieza del equipo de ordeño y del tanque de refrigeración es una actividad esencial para minimizar la contaminación microbiológica de la leche. A su vez, la calidad microbiológica del agua destinada al lavado y limpieza del equipo de ordeño puede estar afectada por las condiciones de manejo y conservación de la misma.

Esta calidad es a menudo evaluada usando microorganismos indicadores, cuya concentración o densidad está generalmente relacionada con los riesgos sanitarios que presenta; así, cualquier explotación de ganado vacuno lechero debe cumplir con la normativa respecto a la calidad del agua de consumo humano (Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, publicado el 21 de febrero de 2003) que refleja entre otros los siguientes parámetros microbiológicos: coliformes totales 0 unidades formadoras de colonia (UFC)/100 ml., Escherichia coli (coliformes

fecales) 0 UFC/100ml.

El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica del agua usada para la limpieza del equipo de ordeño y tanque de refrigeración en explotaciones bovinas lecheras de Galicia y su correlación con la calidad higiénico-sanitaria de la leche del tanque de refrigeración. Aunque se tomaron las muestras preferentemente para conocer la calidad microbiológica del agua de lavado, se constató que excepto en una explotación esta agua era la misma que se utilizaba para la bebida y la limpieza de los alojamientos del ganado.

Este trabajo refleja la incidencia exclusivamente de los tipos de agua utilizados y los sistemas de potabilización que se usan de manera más frecuente, en la calidad higiénica de la leche de tanque.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el trascurso del 2017 se analizaron muestras de agua tomadas en 135 granjas de vacuno lechero de Galicia para determinar la presencia y recuento de coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales, mediante la metodología PNT/001 de filtración de membrana.

Dichas tomas se realizaron asépticamente en lechería utilizando frascos estériles para análisis microbiológico; las muestras se conservaron en frío hasta la llegada al laboratorio.

A su vez, mensualmente se determinó la media geométrica móvil de dos meses para el recuento bacteriano (RB) y la media geométrica móvil de tres meses para el recuento de células somáticas (RCS) de la leche de tanque mediante un Bactoscan y un Fossomatic, respectivamente. Estos análisis fueron realizados en el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de Leche (LIGAL).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 135 granjas estudiadas, únicamente el 17,8% (n=24) obtenían el suministro del agua de la red pública; de las otras 111 explotaciones con agua procedente de pozos, el 86% utilizaba agua sin aplicarle ningún sistema de potabilización.

El análisis microbiológico del agua procedente de este último grupo de granjas reflejó una prevalencia de muestras positivas a coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales de 27.7, 10.2 y 18,2%, respectivamente. Además, las medias obtenidas fueron de 71 UFC /100 ml (10-100), 31 UFC/100 ml. (5-100) y 44 UFC/100 ml. (18-90) para estos grupos bacterianos.

En las 37 explotaciones con presencia de coliformes totales en el agua, la media del RB en la leche de tanque fue de 25.000 UFC/ml., lo que indicó que la deficiente calidad microbiológica del agua no influyó en el RB de la leche producida, al contrario de lo que indican algunos estudios previos. La media del RB global de las 135 ganaderías fue exactamente igual, 25.000 UFC/ml.

En cuanto al recuento de células somáticas, las 37 explotaciones presentaron una media de 216.000/ml y la media del total de las explotaciones evaluadas fue de 217.000/ml.

No obstante, las ganaderías que utilizan el agua procedente de la red pública presentan medias de 23.000 UFC/ml y 208.000 células/ml y los resultados son más satisfactorios en aquellas que con captación propia, utilizan algún sistema de potabilización de la misma (mayoritariamente peróxido de hidrógeno), con 17.000 UFC/ml y 199.000 células/ml.

En el análisis *espacio-temporal* de la calidad de agua se vio de forma general que en los meses más secos la calidad bacteriológica tendía a empeorar. Se detectaron algunas zonas muy concretas de deficiente calidad del agua que coincidían con áreas de mucha carga ganadera.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que un alto porcentaje de las explotaciones de ganado vacuno lechero analizadas presentan una calidad microbiológica del agua deficiente, no apropiada para la limpieza del equipo de ordeño y tanque de refrigeración. Este estudio refleja la importancia de determinar la calidad microbiológica del agua y la mejoría de los resultados cuando se utilizan aguas sometidas a distintos sistemas de potabilización. No se apreciaron diferencias significativas entre aguas municipales y aguas propias no potabilizadas. Sí se observaban mejores resultados con aguas propias y potabilizadas, pero la diferencia fue solo estadísticamente significativa para el caso de potabilización con peróxido de hidrógeno.

IMPACTO DE LAS MASTITIS SUBCLÍNICAS EN EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE LOS BOVINOS LECHEROS

Fraga C, Pinho L. Bexiga L, Carvalheira J

INTRODUCCIÓN

Las mastitis son una inflamación de la glándula mamaria, siendo una de las enfermedades más comunes de los bovinos lecheros. Así, constituyen una amenaza para la performance de los animales y para la salud de la ubre y producción lechera [8]. Se relacionan con importantes pérdidas económicas para el productor, que se deben a una menor producción y calidad de leche [2], mayores gastos con veterinarios, fármacos y expensas de diagnóstico, aumento de la leche desecho y de la tasa de desecho [6].

El impacto de las mastitis en el rendimiento reproductivo de los bovinos lecheros se ha estudiado a lo largo de los últimos 25 años, por diversos autores. De hecho, varios índices reproductivos, como el intervalo parto-concepción (IPC), días a la primera inseminación artificial (IA) y número de servicios por concepción se han demostrado alterados en la presencia de mastites clínicas [1;5] o subclínicas [11].

Las mastitis subclínicas, conducen a una reducción del estradiol y androstediona folicular [3;8] y a una baja expresión de los recetores de LH, lo que conduce a reducidos niveles preovulatorios de LH y a un retraso de la ovulación [8]. Las mastitis clínicas, estimulan la liberación de PGF2? [4;12], conduciendo a una luteólise prematura con consecuente reducción de la tasa de concepción y aumento de la mortalidad embrionaria [10]. Otros mediadores inflamatorios (IL-1; IL-6; TNF-?; interferón ?) son liberados en las mastitis clínicas, conduciendo a una disminución de los niveles de estrógenos, lo que compromete el suceso de la ovulación [7;9;13;15;16].

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó con recurso a la base de datos BOVINFOR 2016, en la cual son compilados los datos del control lechero del ganado vacuno de Portugal. Se estudiaron 9 explotaciones, provenientes de 3 regiones (*Entre Douro e Minho; Beira Litoral; Alentejo*), lo que resultó en el análisis de 28.540 ocurrencias. Se conocían informaciones relativas a los 3 primeros partos: fecha de parto, fecha de la última IA, número de lactación, recuento de células somáticas (RCS) y fecha de realización del control. Se analizó un período de 20 años, desde 1996 hasta 2016.

Con el fin de excluir posibles datos incorrectos, no se utilizó

la fecha de IA, pero se calculó la fecha de concepción. Así, al sustraer 282 días (tiempo de gestación) a la fecha del último parto, se calculó la fecha de concepción. A partir de este valor se calculó el IPC, que fue el índice reproductivo utilizado. Los datos del RCS fueran convertidos en *linear score* (LS).

Así, se analizó el impacto del LS en el IPC. Para ello, se estudiaron dos controles lecheros distintos: el control anterior a la concepción y el control con el mayor LS de los días abiertos. Los dos episodios han sido analizados en conjunto. O sea, los datos del control lechero con el mayor LS de los días abiertos, fueran agrupados de acuerdo con los datos del control lechero anterior à la concepción. Más tarde, se estudió el efecto de la cronicidad de los episodios de mastitis subclínicas, en el IPC. Así, se evaluó el progreso del promedio del IPC mientras aumentaban los episodios, dentro de los días abiertos, en los cuales el LS era superior a 4 (RCS>200.000 células/ml). Por fin se realizó un análisis de regresión linear, con la cual se estudió la relación entre el IPC y los episodios, dentro de los días abiertos, en los cuales el LS era superior a 4.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos apuntan la existencia de una relación positiva entre el LS y el IPC. A medida que avanza el LS del episodio anterior a la concepción y del mayor LS de los días abiertos, aumenta el IPC. Esto se verificó para las dos lactaciones estudiadas y con resultados estadísticamente significativos. Relativamente a la cronicidad, los resultados indican la existencia de una relación entre la evolución del número de episodios y el aumento del promedio del IPC. Por cada aumento del número de eventos en los cuales el LS fue superior a 4, el IPC aumentó un promedio de 28,7 días para los datos relativos a la primera lactación y 27,9 días para os datos relativos a la segunda.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos indican una la existencia de una relación positiva entre el recuento de células somáticas y el intervalo parto-concepción. Además, apuntan para la existencia de un impacto de la cronicidad de los episodios en la fertilidad, indicando que cuanto mayor el número de eventos de mastitis subclínicas, mayor el intervalo parto-concepción.

ASOCIACIÓN ENTRE SALUD UTERINA, CICLICIDAD OVÁRICA Y CONDICIÓN CORPORAL EN EL POST-PARTO EN VACAS LECHERAS EN PASTOREO

Rojas E, Herlihy MM, Kenneally J, Grant J, Lonergan P, Butler ST

It is well established that postpartum period energy requirements shift abruptly, and it is associated with productive and reproductive performance in dairy cows. The objective of this observational cross-sectional study was to evaluate the relationships between uterine health status (UHS), body condition score (BCS) and ovarian cyclicity (OC) troughout early lactation and their implications on reproductive performance in seasonal-calving, pasture- based, dairy cows. First and second lactation dairy cows (n=2,602) from 35 dairy farms located in Munster, Ireland, were enrolled in the study. All cows were spring-calving (February to April) in either 2015 (n = 24 herds) or 2016 (n = 11 herds). All farms were visited every 15 days, and at each visit animals that were at week 3 (wk3; range 14 to 27 days in milk) and week 7 (wk7; range 42 to 55 days in milk) post-calving were examined. BCS was measured by a single observer using a 1 to 5 scale in 0.25 increments. Transrectal ultrasound examinations (8.5 MHz transrectal transducer Ibex Pro, Ibex®, Colorado, USA) were conducted at each visit to determine OC by visualizing the presence of a corpus luteum (CL) and/or dominant follicle (DF) on either ovary and to assess UHS. Animals were collapsed into three BCS categories: low (? 2.5), target (? 2.75 ? 3.25) and high (? 3.5), four UHS categories based on uterine luminal shape and volume and echogenicity of the luminal liquid: healthy, low infection (LI), mild infection (MI), severe infection (SI) and three OC categories: deep anoestrus (DA; No CL and no DF), anoestrus (AN; no CL and presence of DF) cycling (CyC; presence of CL). OC change between wk3 and wk7 was blocked into four categories, as non-start cycling (CL no present at both wk3 and wk7), start cycling (CL no present at wk3 and CL present at wk7), stop cycling (CL present at wk3 and CL no present at wk7) and keep cycling when cows had CL present at both wk3 and wk7). Fisher's Exact Test was used to test associations between these different categorical variables and was supplemented by logistic regression to calculate odds ratios and predicted probabilities. Forty-five and 92.4% and 96.4 and 73.6% of the animals were cycling or having uterine infection on wk3 and wk7, respectively. On wk3, there was association between likelihood of having resumed OC, UHS and BCS; cows with low BCS (OR=0.73, *P*?0.05), uterine infection (both MI and SI; OR=0.17 and 0.04, respectively; both *P*<0.0001) had lower likelihood to having resumed OC compared with target cows. Correspondingly, DA and AN cows had greater likelihood to have uterine infection than CyC (OR= 7.1, 7.9, both *P* ? 0.0001). On wk7, we also found a strong association between all those variables. In conclusion, UHS, OC and BCS are associated between each other troughout all postpartum period.

Supported by Irish Department of Agriculture, Food and the Marine (Grant 13S528).

	Wk7				
	Non Infection	**Low Infection**	**Mid Infection**	**Severe Infection**	**Total**
Wk3					
Non Infection	10	5	1	0	16
Low Infection	166	343	127	1	637
Mild Infection	406	666	342	14	1428
Severe Infection	81	91	40	8	220
Total	663 1	105	510	23	2301

Table 1. UHS change between wk3 and wk7 post-partum

ENSAYO DE UN TRATAMIENTO DE POSTRANSFERENCIA EN NOVILLAS FRISONAS RECEPTORAS DE EMBRIONES COMO ESTRATEGIA PARA MEJORAR SU FERTILIDAD

Fuentes S, Sierra A, Domínguez JC

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

En el complejo proceso del trasplante de embriones (**TE**), las hembras receptoras son el último y definitivo paso y un punto crítico en el que todos los gastos de la técnica se van a aplicar a la receptora gestante (Beal and Hinshaw, 2000).

En este estudio experimental, se ha diseñado un tratamiento postransferencia con objeto de intentar aumentar los porcentajes de gestación de las receptoras mediante la aplicación

de dispositivos intravaginales de progesterona (**P4**) y administración de GnRH, abordando el objetivo de evaluar los porcentajes de gestación obtenidos en las receptoras a las que se les ha aplicado este tratamiento como estrategia para mejorar su fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se ha llevado a cabo a partir de 3.371 transferencias realizadas en novillas Frisonas de entre 14 y 17 meses con embriones procedentes de donantes de esta misma raza, todos de calidad 1 (para evitar la variabilidad inherente a la calidad del embrión).

Al grupo de novillas control (n=1.803) (con tratamientos de sincronización que contemplaba o no superovulación), no se les aplicaba el tratamiento postransferencia, mientras que al tratado (n=1.568) (con tratamientos de sincronización que contemplaba o no superovulación), se les aplicaba el tratamiento de postransferencia que consistía en la inserción de un dispositivo vaginal de P_4 (PRID sin cápsula hormonal, o PRID Alfa), el día 7 después del celo de la receptora (inmediatamente después de la transferencia del embrión) (el dispositivo se retiraba 12 días después de la colocación); Se aplicaban también dos GnRH (5 ml de Fertagyl® i.m.), una, el día de la transferencia (día 7) y otra, diez días después.

Para el análisis estadístico se utiliza el paquete estadístico SAS 9.3 Copyright © 2002-2010 (SAS Institute Inc., NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que la utilización de P_4 y GnRH como tratamiento de postransferencia en receptoras, tanto sin superovulación como con superovulación en el tratamiento de sincronización de estas hembras, mejora, con significación estadística (P= 0,0248), los porcentajes de gestación con respecto a los totales obtenidos sin tratamiento postransferencia (63,39% *vs.* 57,85%, respectivamente).

En el período crítico del reconocimiento maternal de la gestación, los días 15-17, es importante tener niveles bajos de E_2 para inhibir o retrasar la luteolisis, ya que el E_2 puede estimular la secreción de $PGF_{2?}$ (Binelli *et al.,* 2001). En receptoras no superovuladas, al colocar un dispositivo P_4 el día 7 del ciclo implica la presencia de un folículo dominante grande el día 15-17. En receptoras superovuladas, en muchas ocasiones se puede observar, en el día 7, más de un folículo en crecimiento que si le añadimos un dispositivo de P_4, podrían convertirse en folículos dominantes persistentes resultando en mayores niveles de E_2 en sangre que a su vez, podrían favorecer la síntesis de $PGF_{2?}$. Por este motivo nos planteamos aplicar el día de la transferencia, día 7, un dispositivo vaginal de P_4 junto con GnRH (5ml de Fertagyl®) y diez días más tarde, día 17 del ciclo, aplicamos otra GnRH (5ml de Fertagyl®); con la primera GnRH, día 7 del ciclo, provocamos la ovulación del folículo dominante, la formación de un CL accesorio y la aparición de una nueva onda de crecimiento folicular y con la segunda GnRH, provocamos la ovulación del nuevo folículo dominante, obtenemos un nuevo CL accesorio y conseguimos unos niveles bajos de E_2 en el período crítico del reconocimiento maternal de la gestación, lo que teóricamente favorecería mayores porcentajes de gestación. La aplicación de esta segunda GnRH (5ml de Fertagyl®), el día 17 es fundamental para provocar la ovulación del folículo dominante y disminuir así la concentración de E_2 en el período crítico del reconocimiento maternal de la gestación, para inhibir o retrasar la luteolisis (Binelli *et al.,* 2001).

CONCLUSIÓN

La utilización de P_4 y GnRH como tratamiento de postransferencia en receptoras, mejora, con significación estadística, los porcentajes de gestación con respecto a los totales obtenidos sin tratamiento postransferencia; Por todo ello, y a la vista de los resultados obtenidos, podemos afirmar que el tratamiento de postransferencia ensayado, se muestra como el tratamiento de elección para conseguir incrementar los porcentajes de gestación de las hembras receptoras de embriones de raza Frisona.

BIBLIOGRAFÍA

-Beal, W. E.; and Hinshaw, R. H. (2000). Synchronization of estrus and ovulation in bovine embryo transfer recipients *Virginia Polytechnic Institute and State University and Ashby Embryos Inc.*AABP.

-Binelli, M.; Thatcher, W.; Mattos, R.; Baruselli, P. (2001). Antiluteolytic Strategies to Improve Fertility in Cattle. *Theriogenology* 2001. 56: 1451-1463.

-SAS Institute Inc. SAS/STAT Users Guide, version 6, 4 th ed. SAS Inst., Cary, NC.; (2011).

LA DEPHERELINA (ANÁLOGO SINTÉTICO DE LA GnRH) COMO INDUCTOR DE LA OVULACIÓN, APLICADA AL FINAL DE UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO DE CINCO DÍAS CON PROGESTERONA REDUCE EL FRACASO OVULATORIO COMPARADO CON LA GONADORELINA (GNRH NATURAL) EN VACAS LECHERAS DE ALTA PRODUCCIÓN

García-Ispierto I, Serrano-Pérez B, Nunes JM, Prades B, Perez-Salas JC, López-Gatius F

Introducción: Durante las últimas décadas, los casos de anestro en vacas lecheras de alta producción han ido aumentando considerablemente. Este hecho, junto con la baja detección de estro, ha provocado que los protocolos de sincronización cortos a tiempo fijo (FTAI) se hayan convertido en una rutina de manejo. La combinación de hormonas utilizadas en los protocolos con progesterona intravaginal es extensa. La mayoría de ellas incluye gonadorelina como inductora de ovulación 12h antes de la inseminación artificial (IA). La depherelina, una agonista de la GnRH de larga acción, está disponible actualmente en España. Solo se dispone de un estudio en granjas lecheras comerciales, con un número pequeño de animales, donde se ha utilizado en protocolos de sincronización basados con progesterona a tiempo fijo (Garcia-Ispierto *et al*, 2017).

Objetivos: Comparar los efectos de la depherelina con la gonadorelina aplicada 48 horas después de la retirada del dispositivo vaginal de progesterona sobre la eficacia reproductiva en vacas lecheras de alta producción.

Material y métodos: El estudio se realizó en una granja de vacas lecheras de alta producción de raza Frisona de la zona de Lleida. El número de vacas en lactación fue de 220 (mayo, 2017- enero, 2018). Durante la visita reproductiva semanal, las vacas abiertas de más de 50 días posparto sin signos de estro desde al menos 21 días y sin desordenes reproductivos como folículos ováricos quísticos o endometritis, se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos: Gonadorelina (n=269) o Depherelina (n=269). Las vacas en el grupo gonadorelina fueron tratadas con progesterona intravaginal (PIV) (CIDR, 1.38 g de progesterona; Zoetis, España) más GnRH (100 microg i.m.; Cystoreline, CEVA Santé Animale, Libourne, Francia) el día de la inserción del PIV. La PIV se retiró 5 días tras

su inserción y además se les trató con PGF2alpha (PGF Veyx Forte, Ecuphar, España) a la retirada de la PIV y 24h después. Cuarenta y ocho horas después de la retirada de la PIV, los animales recibieron una segunda dosis de GnRH y fueron inseminados 12h después (López-Gatius *et al.*, 2015). El grupo Depherelina recibió el mismo protocolo citado anteriormente pero la segunda dosis de GnRH se sustituyó por depherelina (100 microg depherelina i.m; Gonavet, Veyx, Bélgica). Los ovarios fueron ecografiados los días de la inserción de la PIV, a la IA y 7 días tras la IA. Se realizaron regresiones logísticas binarias con las variables dependientes fracaso ovulatorio, diagnóstico de gestación (28-34d post IA), pérdida fetal inicial (primer trimestre) y gemelos a diagnóstico de gestación. Las variables independientes fueron edad (primípara vs multípara), tratamiento (gonadorelina vs depherelina), índice de temperatura-humedad (THI) máximo a la IA y al tratamiento (<72 vs

?72 unidades) y las interacciones plausibles.

Resultados: La media de producción de leche y de número de lactación de las vacas del estudio al tratamiento fue de 41± 8.5 kg y 2.9 ± 1.7 lactaciones, respectivamente (media ± DE). De las regresiones logísticas binarias realizadas, la única significativa fue el fracaso ovulatorio. La tabla 1 proporciona las variables que resultaron ser significativas para el fracaso ovulatorio.

Conclusiones: La depherelina redujo el fracaso ovulatorio respecto a la gonadorelina aplicada al final del tratamiento de progesterona intravaginal de 5 días en vacas lecheras de alta producción.

REFERENCIAS:

Garcia-Ispierto I, Ramón Mur-Novales, Beatriz Serrano-Pérez Jose Miguel Nunes, Fernando López-Gatius. Comparison between gonadorelin (natural GnRH) and dephereline (synthetic analogue of the GnRH) used to induce ovulation at the end of a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol in high producing dairy cows. Libro de Abstracts, Anembe 2017.

López-Gatius F, López-Helguera I, De Rensis F, Garcia-Ispierto I. Effects of different five-day progesterone-based synchronization protocols on the estrous response and follicular/luteal dynamics in dairy cows. J Reprod Dev. 2015;61(5):465-71.

Tabla 1. Riesgo relativo de la variables incluidas en el modelo de regresión logística final para el fracaso ovulatorio (n =538).

Factor	Clase	n	% fracaso ovulatorio	Riesgo relativo	95% Intervalo de Confianza	P
Edad	primípara	22/134	16.4	Referencia		
	multípara	30/404	7.4	0.44	0.24-0.81	0.008
THI máximo	<72	11/228	4.8	Referencia		
a la IA	?72	41/310	13.2	2.9	1.4-5.6	0.003
Tratamiento	Gonadorelina	38/269	14.1	Referencia		
	Depherelina	14/269	5.2	0.35	0.18-0.66	0.001

R^2 Nagelkerke = 0.12

DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE VACAS LECHERAS RESINCRONIZADAS CON PROTOCOLOS INCLUYENDO O NO GnRH PREVIO AL DIAGNÓSTICO DE NO PREÑEZ

Wijma R, Pérez M, Masello M, Stangaferro M, Giordano J

Los objetivos de este experimento fueron evaluar: a) el tiempo a la preñez después de la primera inseminación artificial (**IA**) posparto, b) la proporción de vacas re-inseminadas en estro (**IAE**), y c) la proporción de preñeces por IA (**P/IA**) utilizando dos estrategias de resincronización de la ovulación. Se utilizaron vacas Holstein en lactación pertenecientes a dos granjas de Nueva York (EEUU) con una producción promedio de 42 kg/día. En el momento de la primera IA posparto las vacas se estratificaron de acuerdo al número de partos (1 vs. >1) y se asignaron aleatoriamente para recibir (n = 2342**; G25**) o no (n = 2322; **NoG25**) GnRH 25±3 días después de la IA previa. El diagnóstico de no preñez (**DNP**) se realizó mediante ultrasonografía transrectal (**UST**) 32±3 días después de la IA. En ese momento, las vacas no preñadas se clasificaron según las estructuras ováricas presentes y se trataron de igual manera en ambos grupos experimentales. Las vacas con un cuerpo lúteo (**CL**) >15 mm y un folículo >10 mm recibieron un tratamiento con PGF2a en el momento del DNP, PGF2a 24 horas más tarde, GnRH a las 32 horas e IA a tiempo fijo (**IATF**) 16 a 18 horas después. Aquellas vacas que no cumplieron con estas condiciones (**NoCL**) recibieron un protocolo Ovsynch con dos tratamientos de PGF2a y suplementación con progesterona (**P4**; GnRH+CIDR-7 d- retiro del CIDR+PGF2a-1 d PGF2a-32 h GnRH-16 h IATF). En un subgrupo de vacas se tomaron muestras de sangre en el momento de la GnRH previa a la IATF (n = 455) para determinar la concentración plasmática de P4. Las variables binomiales se analizaron mediante regresión logística y el riesgo de preñez [sólo vacas no preñadas después de la primera IA posparto y que completaron al menos 210 días en riesgo después de la primera IA (G25 = 543; NoG25 = 512)] utilizando riesgos proporcionales de Cox. Para el análisis de P/IA, se consideró cada IA como unidad experimental. Todos los modelos incluyeron el tratamiento y número de partos como efectos fijos y la granja como efecto aleatorio. El riesgo de preñez después de la primera IA posparto no resultó afectado por el tratamiento (P = 0.48; HR =1.04, 95% IC: 0.94–1.17) o número de partos (P = 0.71; HR =0.98, 95% IC: 0.87–1.10). La mediana de días a la preñez fue de 74 (95% IC: 67-77) y 74 (95% IC: 70-80) días para los tratamientos G25 y NoG25, respectivamente. La proporción de vacas que recibió IAE fue mayor (P <0.001) en el tratamiento NoG25 (60.4%; 1489/2467) que en el G25 (49.8%; 1191/2390), pero no hubo efecto (P = 0.14) sobre la P/IA entre las vacas que recibieron IAE (G25 = 40.4%; 484/1191 vs. NoG25 = 37.8%; 563/1489). La proporción de vacas incluidas en el grupo CL fue mayor (P <0.001) en el tratamiento G25 (84.3%; 960/1139) que en el NoG25 (78.5%; 737/939). El tratamiento afectó la P/IA sobre todas las IATF (P = 0.01; G25 = 40.7%; 463/1139 vs. NoG25 = 35.4%; 332/939), en el grupo CL (P <0.001; G25 = 40.9%; 393/960 vs. NoG25 = 32.8%; 242/737), y se observó una

tendencia para el grupo NoCL (P = 0.06; G25 = 39.1%; 70/179 vs. NoG25 = 44.6%; 90/202). El tratamiento no afectó las pérdidas de preñez desde 32±3 hasta los 63±3 días después de la IA ni para todas las IATF (P = 0.23; G25 = 8.2%; 34/416 vs. NoG25 = 5.8%; 18/310), ni para las vacas clasificadas como CL (P = 0.23; G25 = 7.3%; 26/358 vs. NoG25 = 6.2%; 14/225) pero tendió a afectar las pérdidas de preñez entre las vacas clasificadas como NoCL (P = 0.07; G25 = 13.8%; 8/58 vs. NoG25 = 4.7%; 4/85). La proporción de vacas con concentración de P4 <0.5 ng/mL en el momento de la GnRH previa a la IATF no se vio afectada por el tratamiento en todas las IATF (P = 0.61; G25 = 92.3%; 215/233 vs. NoG25 = 91.0%; 202/222), ni en las vacas clasificadas como CL (P = 0.52; G25 = 93.3%; 181/194 vs. NoG25 = 91.5%; 151/165), o como NoCL (P = 0.73; G25 = 87.2%; 34/39 vs. NoG25 =

1.5 %; 51/57). En conclusión, omitir la primera GnRH del protocolo de resincronización de la ovulación dio como resultado una mayor proporción de vacas re-inseminadas en estro, y a pesar de la reducción en las P/IA después de la IATF, no afectó el riesgo de preñez después de la primera IA posparto. Este proyecto de investigación fue financiado por el New York Farm Viability Institute (Proyecto FVI-17013) y USDA-NIFA (Proyecto NYC-127434).

DESCRIPCIÓN ECOGRÁFICA DE UN CASO DE INTERSEXO

Rodas R, Vázquez J, Nieto P, Calle G, Dutan J, Murillo y, Serpa G, Ortuño C, González JV, Ayala L

Un bovino nacido en la granja de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Cuenca, Ecuador, es motivo de estudio por presentar irregularidades en el desarrollo de sus órganos reproductivos. Nacido de parto eutócico el 14 de abril del 2016, de madre primípara, mestiza y padre -Shamrock 7H010849- holstein puro. El animal se registró como macho, a pesar de la ausencia aparente de escroto y testículos. Al llegar a la pubertad, el supuesto macho, empezó a mostrar signos de celo, y desde entonces mantiene ciclos estrales regulares. La descripción anatómica de las estructuras sexuales de este animal por ecografía es el objetivo de este trabajo. A la inspección externa el animal presenta rasgos femeninos, con una altura a la cruz de 131 cm, longitud entre cruz y punta de nalgas de 126 cm, ancho de grupa 47 cm, distancia entre isquiones de 16 cm, una conformación que corresponde a una hembra holstein mestiza típica de su edad. Sin embargo, al examen de la región perianal solo se observa un ano de características normales, el periné tiene una longitud de 7 cm ventral a este existe una estructura poco visible de consistencia fibrosa y con una longitud de 8 cm que se correspondería con el vestigio de vulva, que con el desarrollo del animal ha dejado de ser evidente. El animal presenta lo que se puede considerar un pene normal. La longitud entre el ano y abertura del prepucio es de 63 cm. El ano dista de la glándula mamaria 43 cm. La abertura del prepucio tiene un diámetro de 3 cm, cubierto por un penacho de pelos más largos, 5cm, que el pelaje de la zona vecina, en su interior no se observa estructuras parecidas a un clítoris o rudimento del mismo. A la palpación inmediatamente por delante de la glándula mamaria se aprecia una estructura ensanchada más consistente que el tejido glandular de 5 cm de longitud y que se continua cranealmente unos 16 cm, en esta porción dicha estructura tiene un diámetro de 1,9 cm; por la ubicación y lo consistente del tejido se correspondería con el pene, el cual se ha intentado exponer manualmente sin éxito. Con la exploración ecográfica sobre la zona indicada se evidencia su presencia. La abertura prepucial está separada de los cuartos anteriores de la ubre por 19 cm.

Para la exploración rectal el animal fue sedado mediante inyección intramuscular de 10mg de clorhidrato de xilacina (Dormi-Xyl® 2, Agrovet Market s.a.) y anestesia epidural con 3 cm de clorhidrato de lidocaína (Lidocaína 2% ®, Levatec Cía. Ltda.). A la palpación rectal se identifica un cérvix definido, cuernos uterinos con marcado tono, ovarios con estructuras que evidencian su funcionalidad. Para la exploración ecográfica se usó un ecógrafo Aloka ProSound 2 ®, multifrecuencia, con transductor lineal de 7,5 MHz. La exploración se inició con el ovario derecho cuyas medidas fueron 39,4 mm de largo por 35 mm de ancho, en este se confirmó la presencia de un folículo de 19 mm de largo por 12 mm de ancho; el ovario izquierdo mide: 32,5 mm de largo por 27 mm de ancho. Los cuernos uterinos tienen un diámetro de 12 mm. El cérvix tiene una longitud de 90 mm y un diámetro de 23 mm, la vagina que debería encontrarse caudal al cérvix no pudo ser evidenciada ni por palpación manual ni por ultrasonografía. Puesto que el animal orina y tiene sangrado metaestral debe existir una estructura que comunique la vejiga con el pene y el cérvix con la unión de la uretra que no se ha podido evidenciar por lo que se realizará un futuro estudio anatómico. Ninguna otra estructura que se corresponda con órganos sexuales masculinos se identificó a través del examen rectal. Por lo expuesto y al no existir aparato genital externo femenino ni masculino completamente desarrollado, consideramos que el animal en estudio encaja dentro del tipo de animales intersexo, como lo señala Lofstedt (2013) al describir un caso parecido donde el animal creció como novilla y cerca de los dos años de edad confirmaron que orinaba desde un orificio ubicado en medio de la ubre, sin embargo, no observaron vulva, escroto ni testículos. Los casos descritos en la bibliografía de intersexo en el ganado vacuno son escasísimos. Se han encontrado solamente dos casos de alteraciones sexuales reportados por Lofstedt (2013): el de una ballena beluga hermafrodita publicado por De Guise, D. en 1994 y en 1995 por Beheringer sobre la posibilidad de feminizar el tracto masculino en ratones. En resumen, ecográficamente se evidencia en este animal la presencia de ovarios, cuernos uterinos y cérvix, no se comprobó por este medio la presencia de testículos, pero si una estructura con características de pene en posición típica de este órgano.

DIAGNOSIS OF CYTOLOGICAL ENDOMETRITIS IN DAIRY COWS: AGREEMENT BETWEEN ENDOMETRIAL CYTOLOGY AND ULTRASOUND

Lorenzo G, Cainzos J, Quintela LA

Cytological endometritis (CE), characterized by inflammation of the endometrium in the absence of signs of clinical, has a significant impairment of the reproductive performance (Dubuc *et al.*, 2010). Cytobrush and low volume uterine flushing are the most common techniques to obtain endometrial samples and diagnosis CE (Wagener *et al.*, 2017). However, sampling procedure, sample preparation and evaluation of those technologies are time consuming and difficult their implementation at farm level as monitoring tool. The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of ultrasound diagnosis of CE compared with endometrial cytology.

The study was conducted from September 2016 to June 2017 in a dairy farm allocated in the northwest of Spain (574 animals and 12.417 kg per cow/year, 305-day). A transrectal ultrasound exploration and an endometrial cytology were performed at 38±3 postpartum days in animals calving during this period (n=199, parturition range from 1 to 7). During the ultrasound exploration, the presence of abnormal fluid at uterus lumen was determined using a linear Tringa ultrasound, with a 5 Mhz ultrasound probe. Uterine cytology was obtained using a cytobrush (Quicklock 2000, Minitube®). Slides were stained by Diff Quick (Quick Panoptic®, Spain). All the slides were examined by the same person, with a CHT microscope (Olympus®) at 400X magnification. More than 150 cells (excluding erithrocytes) were counted on each slide. Samples with 5% polymorphonuclear neutrophils (PMN) were categorized as CE positive (Barrio *et al.*, 2015). Results were gathered in a contingency table and Cohen's kappa value was calculated. If the p-value is under 0.05, results were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using SPSS version 20.0.

Results indicated that 22.1% of animals developed CE, value similar to the reported (14.9-19%) in previous reports working with the same conditions of postpartum days and % PMN cutoff (Quintela *et al.*, 2017). On the other hand, 85.2% of the negative cows had not abnormal content into the uterus lumen, but only 52.3% of the positive cows had it. This data indicates a high correlation between two diagnostics methods for negative animals, but a quite low efficacy of the ultrasound technique to diagnose CE, reflected in a Cohen's kappa value of 0.368. This discrepancy is due to the fact that each method detects a different situation, whereas cytology detects endometrial in-

flammation, ultrasound shows the uterine cleaning mechanism (Kasimanickan *et al.*, 2004). In conclusion, a high percentage of animals with positive cytology have no abnormal content at uterine lumen, so we can conclude that ultrasound is not a good alternative to diagnose CE compared with endometrial cytology.

1. Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, Walton JS, LeBlanc SJ (2010). Definitions and diagnosis of post partum endometritis in dairy cows. Journal of Dairy Science 93: 5225-5234.
2. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH (2004). Endo - metrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in post partum dairy cows. Theriogenology 62: 9-23.
3. Quintela LA, Vigo M, Becerra JJ, Barrio M, Peña AI y Herradón PG (2017). Endometritis subclínica en ganado vacuno lechero: etiopatogenia y diagnóstico. Revisión Bibliográfica. ITEA 113 (3): 250-266
4. Barrio M, Vigo M, Quintela LA, Becerra JJ, García- Herradón PJ, Martínez-Bello D, Fernández-Sánchez FI, Prieto A, Cainzos J, Peña AI (2015). Short communication: Influence of subclinical endometritis on the reproductive performance of dairy cows. Spanish Journal of Agricultural Research, 13(4): 05-02.

SANIDAD

DIARREA VÍRICA BOVINA (BVD) HERRAMIENTAS DE CONTROL

Jubert A, Lázaro M

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio Interprofesional Lechero de Catalunya (ALLIC) especializado en el control de calidad de leche y productos lácteos dispone de un departamento de diagnóstico veterinario especializado en enfermedades reproductivas y patógenos causantes de mastitis. A partir del análisis de la leche del tanque o control lechero, muestras de sangre y cartílago auricular se obtiene información relevante para controlar la Diarrea Vírica Bovina (BVD) y la detección de animales persistentemente infectados (PI).

OBJETIVO

Monitorización de una granja de vacuno lechero situada en Cataluña con el objetivo de detectar animales positivos a BVD y establecer planes de control que permitan un seguimiento de la explotación.

METODOLOGÍA

Se utilizan dos tipos de técnicas: ELISA y PCR, con las matrices de leche, sangre/suero y cartílago auricular.

TÉCNICAS

PCR: aplicada en leche, sangre/suero y cartílago auricular. El kit de extracción para leche y sangre/suero es QIAamp®cador® pathogen mini kit Qiagen y el de cartílago auricular es Virotype® tissue Lysis Reagent Qiagen. Para la amplificación del RNA se utiliza el kit PRUM-100 Exopol.

ELISA antígeno: utilizada en sangre y cartílago auricular. El kit es BVDV Ag/Serum

Plus IDEXX

TIPOS DE MUESTRA

Leche (tanque-control lechero):

El límite de detección del kit de PCR es de un positivo entre 250 animales aproximadamente. En el caso de granjas más grandes, los controles se llevan a cabo o bien a partir de "pooles" realizados del control lechero o bien de las muestras que recoge el veterinario en la granja tras el ordeño de los diferentes patios. Objetivo: Evaluar las vacas en lactación cuatrimestralmente.

Sangre/Suero

Podemos aplicar PCR o ELISA antígeno para la detección de animales positivos. La técnica de la PCR permite agrupar hasta 20 muestras, si el resultado del "pool" es positivo, se procede al análisis individual mediante el kit ELISA Antígeno. Objetivo: Evaluar las vacas en secado, terneras de más de 4 meses y animales de compra que incorporamos a la explotación.

Cartílago auricular

Podemos aplicar PCR o ELISA antígeno para la detección de animales positivos. La técnica de la PCR permite agrupar hasta 25 muestras, si el resultado es positivo, se procede a la identificación del animal positivo mediante el kit ELISA Antígeno. Objetivo: Evaluar los nacimientos (machos/hembras) y abortos.

CASO

Partimos de una explotación no vacunada de aproximadamente 300 vacas en lactación, donde se sospecha de BVD. Como control inicial se analiza la leche del tanque por PCR obteniendo un resultado positivo.

Como el objetivo es detectar y eliminar los animales (PI), se opta por chequear todos los animales de la granja intentando evitar un gasto excesivo para el ganadero. Para ello se agrupan los animales de la siguiente manera:

Vacas en lactación: se utilizan las muestras del control lechero (evitando así el sangrado de todas las vacas). Se realizan "pooles" y "subpooles" hasta encontrar grupos de 10 vacas sospechosas, de las cuales se extraerá posteriormente sangre que se analizará por ELISA antígeno para detectar los posibles PIs. El análisis se repite 21 días más tarde diferenciar entre PI y viremia transitoria. Se detectan dos PIs, uno de ellos había parido un ternero muerto al nacer.

Vacas secas, en enfermería y terneras de >4 meses: se extrae sangre y se realizan "pooles" de 20 muestras obteniendo resultado negativo.

Terneras-terneros de <4 meses y abortos: Se extrae muestra de cartílago auricular de todos los nacimientos. Se agrupan 25 muestras y se analizan por PCR. Se encuentran "pooles" positivos que son analizados individualmente por ELISA Ag y se identifican dos terneros positivos. Estos animales se consideran PIs y son eliminados de la granja a pesar de que se recomienda volver a tomar nueva muestra de cartílago después de 21 días para descartar la viremia transitoria. Paralelamente se analizan muestras de sangre de sus madres respectivas y se confirma que una de ellas es PI y la otra madre presentó una viremia transitoria durante la gestación ya que no repite el resultado positivo.

Tras esta primera actuación en la granja, se planifica un seguimiento a través de la leche del tanque cuatrimestralmente, el análisis de todos los nacimientos (incluyendo abortos y terneros) a partir del cartílago y el control en la entrada de animales nuevos.

En los sucesivos controles de cartílago se detecta algunos animales positivos procedentes de madres con viremias tran-

sitorias, pero el tanque de leche continua con resultados negativos.

CONCLUSIÓN

Ante una granja positiva a BVD es importante incluir todos los animales para detectar los PIs, y ajustar el coste económico. Consideramos muy útil el análisis de la leche de tanque para monitorizar de una manera sencilla y económica a todos los animales en lactación y el control de todos los nacimientos en "pooles" de 25 muestras de cartílago.

Actualmente la granja, tras haber eliminado los PIs en lactación, solamente hace seguimiento del tanque cuatrimestralmente y, una vez al mes, analiza los cartílagos auriculares de los nacimientos.

Remarcar el control de animales que entran nuevos en la granja, ya que podemos introducir un PI o una vaca gestante de un PI que genere nuevas infecciones.

ESTUDIO DEL MANEJO DEL CALOSTRO EN CONDICIONES TRADICIONALES DE CRÍA, EN LA PROVINCIA DEL AZUAY, ECUADOR

Rodas R, Vázquez J, Nieto P, Calle G, Dutan J, Murillo Y, González JV, Ayala L

El primer alimento de la ternera neonata es fundamental para la supervivencia y salud (Yang, Zou, Wu, Li, & Cao, 2015). La baja transferencia de inmunidad pasiva está asociada con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad, y disminuye la ganancia de peso y productividad cuando la vaca es adulta (Furman-Fratczak, Rzasa, & Stefaniak, 2011). Calostros de buena calidad promueven el crecimiento del epitelio intestinal, su diferenciación y el desarrollo de sus funciones (Yang *et al.* 2015). Los factores que afectan la transferencia de inmunidad son: la calidad y cantidad de calostro, y el momento del ordeño y del encalostrado. Algunos estudios reportan que vacas multíparas producen calostro de mejor calidad por tener mayor periodo de exposición a agentes patógenos (Godden, 2008). El objetivo de este trabajo fue evaluar cómo, el número de partos y el sistema de manejo afectan el nivel de proteínas séricas y la ganancia de peso.

Se muestrearon 45 terneras de dos a siete días edad y se anotó el número de partos de la madre y el sistema de manejo para determinar la transferencia de inmunidad pasiva por el contenido de proteína sérica. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular en tubos Vacutainer sin anticoagulante, tras 24 horas en refrigeración se centrifugaron, el suero obtenido se analizó por medio de un refractómetro (SUR/Nalpha Clinical Refractometer. Atago, Modelo 2771). De acuerdo a la técnica descrita por Johnson *et al* (2017). Se determinaron dos grupos por el contenido de proteína sérica: ? 5,5 g/dl y > 5,5 g/dl (Elizondo, 2015). la ganancia media de peso se determinó por diferencia entre el peso inicial registrado el día de la punción y el peso registrado 90 días después con cinta bovinometrica. Se establecieron dos grupos: animales que ganaron menos de 700 g/día y los que ganaron más de 700 g/día (Quigley, 2001). El número de partos de las madres se definió como: vaquillas de primer parto y multíparas (Kehoe *et al*, 2011). el sistema de manejo se estableció en: animales que permanecieron más de 12 horas y menos de 12 horas junto a la madre antes de recibir calostro ordeñado (Elizondo y Rodriguez, 2013).

El 64,4% de terneras registraron valores de proteína sérica ? 5,5 g/dl, que es superior al 37.1 y 38% reportados por Trotz (2008) y Vogels (2013) respectivamente, de estas el 72,4% son hijas de vaquillas y el 27,6% de vacas. El 35,6% tiene valores > 5,5 g/dl, de las que el 12,5% son vaquillas y el 87,5% son vacas.

Tabla 1. Ganancia de peso en ternaras con relación al contenido de proteína sérica, número de partos y sistema de manejo.

	Categoría	Categoría Ganancia de peso
Contenido de proteína sérica	? 5,5 g/dl	653,5 ± 4,2[a]
	> 5,5 g/dl	758,1 ± 15,0[b]
Número de partos	Vaquilla	655,1 ± 5,3[a]
	Multípara	727,9 ± 15,8[b]
Sistema de manejo	> a 12h	668,76 ± 8,7[a]
	< de 12h	734,66 ± 18,8[b]

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

Los resultados muestran diferencias para la ganancia diaria de peso cuando los valores de proteína sérica son > 5,5 g/dl, para vacas multíparas, y cuando las crías permanecen menos de 12h junto a la madre antes de recibir calostro con biberón. Además, todos los animales permanecieron el resto del encalostrado y lactancia junto a la madre.

Tabla 2. Ganancia de peso en terneras nacidas de vaquillas y vacas con relación al contenido de proteína sérica, y sistema de manejo.

	Categoría	Ganancia de peso/hijas de vaquillas	Ganancia de peso/hijas de vacas
Contenido de proteína sérica	? 5,5 g/dl	654,1 ± 5,5	651,8 ± 4,3[a]
	> 5,5 g/dl	665,0 ± 15,0	771,5 ± 13,6[b]
Sistema de manejo	> a 12h	649,6 ± 3,5	693,7 ± 17,2[a]
	< de 12h	670,7 ± 16,7	777,3 ± 18,5[b]

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).

En un estudio realizado para probar la efectividad del calostro conservado en diferentes condiciones la ganancia media de peso fue de 620 g/día (Cummins, Berry, Murphy, Lorenz,

& Kennedy, 2017), que es inferior a la más baja encontrada en nuestro estudio. Debido probablemente a que la temperatura de la zona de estudio se encuentra dentro del rango de confort térmico y a la lactancia natural de las crías junto a la madre.

No se observa diferencias (P>0.05) en ganancia de peso para contenido de proteína sérica, ni para sistema de manejo en terneras nacidas de vaquillas. En nacidas de vacas multíparas observamos diferencias para las dos variables, al respecto Godden (2008). indica que, las vacas multíparas producen calostro de mejor calidad. No se registró mortalidad en los animales estudiados. El crecimiento lento en hijas de vaquillas podría deberse a que son hijas de vaquillas o la calidad del calostro.

En conclusión, el número de partos y sistema de manejo tiene efecto sobre la transmisión de inmunidad, aunque solamente en vacas se aprecia diferencias significativas para ganancia de peso.

SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE AISLAMIENTOS DE MYCOPLASMA BOVIS PROCEDENTES DE CEBADEROS ESPAÑOLES

García-Galán A, Gómez-Martín A, García A, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, Alcázar J, De la Fe C

INTRODUCCIÓN

Mycoplasma bovis (MB) es uno de los principales agentes implicados en el Síndrome Respiratorio Bovino (SRB) (Arcangioli, 2008). Ante la ausencia de otras herramientas, el manejo adecuado y la antibioterapia son las medidas más empleadas para el control de la infección por MB. En referencia al uso de antibióticos (AB), se ha demostrado una disminución de la susceptibilidad antibiótica de la bacteria (Lysnyasnsky y Ayling, 2016). Este trabajo evalúa la eficacia *in vitro* de algunos AB para inhibir el crecimiento de cepas de MB de cebaderos españoles (2016 y 2017).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 25 aislamientos de MB de 7 cebaderos y se estudió el efecto *in vitro* de macrólidos (tulatromicina, gamitromicina, tildipirosina y espiramicina), lincosamida (lincomicina), fluoroquinolonas (enrofloxacina, marbofloxacino, danofloxacina) y tetraciclina (doxiciclina), empleando el método de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (Hannan, 2000). El rango de concentración de estos AB fue de 128-0.0625 , en placas de 96 pocillos,

con un inóculo de 10^3 -10^5 UFC/ml. Las placas se incubaron 37ºC en atmósfera humedecida

con 5% de CO2. La lectura se llevó a cabo a las 48 horas de acuerdo al cambio de color del control positivo. Para cada AB se registró el valor de CMI y los valores de CMI 50 y CMI 90.

RESULTADOS

Los rangos de CMI (µg/ml), CMI 50 y CMI 90 (Tabla 1). En líneas generales, los aislamientos mostraron altos valores de CMI (>128 µg/ml) para gamitromicina, tildipirosina y espiramicina y para los macrólidos y lincosamidas se obtuvo una CMI 50 y CMI 90 superior a 128 µg/ml. Las fluoroquinolonas presentaron unos parámetros de CMI más bajos que los macrólidos y las lincosamidas, siendo el marbofloxacino el AB con eficacia más variable en función de la cepa estudiada (Rango de CMI 0.125 - >128 µg/ml). Dentro del grupo de las fluoroquinolonas, la danofloxacina fue el más eficaz, pues globalmente obtuvo los valores más bajos. La doxicilina fue el antibiótico con el valor más bajo de CMI (0,5 µg/ml) y evidenció los mejores resultados de todos los antimicrobianos, sin obtenerse datos de sensibilidad que evidencien resistencia de ningún aislamiento.

Tabla 1. Rangos de CMI (µg/ml), CMI 50 y CMI 90 de varios AB frente a MB

Antibióticos		Rango de CMI (µg/ml)	CMI 50 (µg/ml)	CMI 90 (µg/ml)
Macrólidos	Tulatromicina	2 - >128	>128	>128
	Gamitromicina	>128	>128	>128
	Tildipirosina	>128	>128	>128
	Espiramicina	>128	>128	>128
Lincosamidas	Lincomicina	1 - >128	>128	>128
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina	0.25 - 32	16	16
	Marbofloxacino	0.125 - >128	32	64
	Danofloxacina	0.25 - 8	4	8
Tetraciclinas	Doxicilina	0.5 - 8	2	4

DISCUSIÓN

Se evidencia la baja sensibilidad *in vitro* de los aislamientos de MB de cebaderos españoles. En el caso de los macrólidos, el fenómeno de resistencia adquirida es conocido y con frecuencia se aíslan cepas con valores de CMI altos (Lysnyasnsky y Ayling 2016). En concordancia con los resultados de este estudio, en trabajos realizados en Francia, las cepas aisladas recientemente mostraron valores de CMI ?128 µg/ml para los macrólidos de nueva generación (gamitromicina y tildipirosina) y semi-sintéticos (tulatromicina) (Gautier- Bouchardon *et al.*, 2014).

Las cepas aisladas son aparentemente más resistentes a las fluoroquinolonas que las descritas en otros estudios europeos. Así, el 90 % de las cepas húngaras mostraron valores de CMI de 0.312 µg/ml para la danofloxacina y enrofloxacina y de 0.625 µg/ml para el marbofloxacino (Gautier-Bouchardon *et al.*, 2014). En Francia, más del 70% de los aislamientos mostró valores de 0.5 µg/ml para los dos primeros y de 1 µg/ml µg/ml para el marbofloxacino. En las lincosamidas, el rango de CMI descrito para la lincomicina es amplio y oscila entre 0.06 y >256 µg/ml (Lysnyasnsky y Ayling 2016), pero nuestras cepas presentan valores muy elevados (CMI 90> 128 µg/ml).

La doxicilina ha mostrado ser un AB eficaz frente a MB en los distintos estudios disponibles siendo el rango de CMI ? 0.03-1 y los valores de CMI 50 y CMI 90, 0.5 y 1 µg/ml respectivamente (Lysnyasnsky y Ayling RD., 2016).

REFERENCIAS

Arcangioli *et al.*, 2008. The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots.

Gautier-Bouchardon *et al.*, 2014. Overall decrease in the susceptibility of *Mycoplasma bovis* to antimicrobials over the past 30 years in France. PLoS One 9. doi: 10.1371/journal.pone.0087672

Hannan PCT., 2000. Guidelines and recommendations for antimicrobial minimun inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. Vet Res, 31(4):373-95

Lysnyasnsky I. and Ayling RD., 2016. *Mycoplasma bovis*: Mechanisms of Resistance and Trends in Antimicrobial Susceptibility. Front Microbiol. 7:595. doi: 10.3389/fmi.2016.00595

[ÁGM1]Unidades

---

15 AÑOS DE PROGRAMA DE CONTROL VOLUNTARIO FRENTE AL IBR EN GALICIA: SITUACIÓN ANTE UN PROGRAMA DE ERRADICACIÓN

Arnaiz I, Eiras C, Carnero MI, Rubinos V, Calavia PM, Cortón ME, López M, Yus E, Diéguez FJ, Orejas JJ, Mourelo JE, Martínez S

INTRODUCCIÓN

La rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad

infectocontagiosa del ganado vacuno causada por el herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1), endémica en España con diferentes prevalencias según las zonas estudiadas. Desde hace años hay países en los cuales la IBR está erradicada y otros con diferentes programas de erradicación. En Galicia se implementó un programa de control voluntario en 2004 que afecta a las explotaciones integradas en las Agrupaciones de Defensa Sanitaria Ganaderas (ADSG).

El objetivo de este estudio es mostrar la evolución de la IBR dentro del programa sanitario de ADSG de Galicia y su situación epidemiológica ante un posible programa nacional de erradicación.

PROGRAMA SANITARIO

El objetivo principal es reducir progresivamente la seroprevalencia mediante la prohibición del uso de vacunas no marcadoras, la incorporación de animales seronegativos, y la detección y eliminación progresiva de seropositivos.

En la actualidad 8.664 explotaciones bovinas están integradas en ADSG que suponen el 26,2% de las granjas de Galicia con el 50,2% del censo de animales. En el caso de las explotaciones de aptitud láctea incluirían el 55,2% de las granjas y el 65% del censo de animales frente al 16,4% y el 36,1%, respectivamente que suponen las de aptitud cárnica.

Las técnicas analíticas empleadas en el diagnóstico son ELISAs de competición para la detección de anticuerpos frente a la glicoproteína gB o gE del BHV-1 en función del empleo o no de vacunas "marcadoras". Los kits de diagnóstico no variaron durante todo el estudio a excepción del kit de gB que fue diferente en 2017.

El muestreo realizado fue:

En explotaciones de carne:

Muestreo anual para determinar anticuerpos frente al BHV-1 de un porcentaje de animales de entre 9 y 36 meses con un nivel de confianza del 95 % y una prevalencia estimada del 10 %.

En explotaciones de leche:

Muestreo anual para determinar anticuerpos frente al BHV-1 de un porcentaje de animales de entre 9 y 24 meses con un nivel de confianza del 95 % y una prevalencia estimada del 10 %.

Muestreo mínimo semestral de la leche de tanque para determinar la presencia de anticuerpos frente al BHV-1.

Incorporaciones:

Muestreo de todos los animales de nueva incorporación. Los animales seropositivos no deberán incorporarse a la explotación.

El programa se ha desarrollado en diferentes fases:

1. Años 2000-2007
    1. Estudio de prevalencia: En el año 2000 se realizó un estudio de seroprevalencia para estimar la situación del IBR en Galicia. En el 2004 este estudio se realizó sobre el total de las explotaciones incluidas en ADSG con objeto de conocer la situación de partida.
    2. Primeros muestreos según la memoria entregada por cada ADSG. Prohibición del uso de vacunas no marcadoras en las explotaciones de producción.
    3. Puesta a punto de las técnicas necesarias para el diagnóstico en el Laboratorio de Sanidade e Produción Animal de Galicia.
2. Años 2008-2018:
    1. Establecimiento de un programa de muestreos obligatorios a todas las ADSG.
    2. Formación de veterinarios y ganaderos en la enfermedad.
    3. Obligatoriedad de clasificar las explotaciones en 5 niveles en función de los resultados obtenidos durante los años de muestreo.
    4. Desarrollo de un sistema informático que permita la trazabilidad de los animales analizados y actuaciones realizadas.

EVOLUCIÓN Y SITUACIÓN ACTUAL

En Galicia, la seroprevalencia de anticuerpos frente a la glicoproteína gB en el año 2000 fue del 55,8% para explotaciones y del 37,5% en animales, que en el caso de los animales menores de 24 meses se reducía al 26,6%. Estos valores fueron similares en 2004 en el programa de ADSG (57,9%; 34,9% y 22,5%, respectivamente), siendo la seroprevalencia mayor en las explotaciones de leche que en las de carne. En 2017 la seroprevalencia a nivel de explotaciones fue del 14,1% frente a la glicoproteína gE y del 13,1% frente a la gB. Igualmente la seroprevalencia en animales se redujo hasta el 5,1% para gE y 5,2% para gB.

La clasificación de las explotaciones realizadas por los veterinarios según los niveles de incidencia de la enfermedad indica que un 14,5% podría corresponderse con explotaciones clasificadas en los niveles 0 y 1 (con riesgo de circulación vírica), un 64,8% corresponde a explotaciones clasificadas en nivel 2 (con varios años con animales menores de 24/36 meses seronegativos) y finalmente un 20,7% correspondería a explotaciones libres con o sin vacunación.

CONCLUSIONES

La situación epidemiológica actual en Galicia permite afirmar que:

Ante la implementación de un posible programa nacional de erradicación un alto porcentaje de las explotaciones de ADSG podrían declararse libres de la IBR en un corto periodo de tiempo y a un coste no elevado.

El alto número de animales menores de 36 meses seronegativos permitiría cubrir la reposición de las explotaciones.

La aplicación del programa sanitario durante estos años ha reducido el número de animales seropositivos procedentes de otras regiones y países necesarios también para la reposición en las explotaciones.

Es necesario plantear la forma de actuar en las comarcas en las que no existen ADSG, generalmente zonas geográficas con pequeñas explotaciones bovinas.

IMPLANTACIÓN EN GRANJA DEL KIT IDEXX BVDV AG POINT-OF-CARE TEST PARA LA MONITORIZACIÓN DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS

Pineda M, Pico A, Manso A

INTRODUCCIÓN

La diarrea vírica bovina (BVD) es una enfermedad infectocontagiosa producida por un virus del género Pestivirus. Esta patología genera importantes pérdidas económicas como consecuencia de su importante poder inmunosupresor. Debido a este motivo, una vez identificada su presencia en el rebaño es necesario establecer un protocolo de monitorización del rebaño. La monitorización consiste en la pronta detección y eliminación de los animales persistentemente infectados (API).

Los API son animales que excretan continuamente una gran cantidad de virus produciendo una re infección constante en el rebaño. Se considera un animal API aquel que presenta dos analíticas positivas separadas 21 días.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue comprobar la ventaja económica que supone una precoz detección de APIs y una rápida toma de decisiones sobre los terneros recién nacidos acerca de sus status sanitario frente a BVD a pie de granja. Se han comparado las pruebas de detección rápida de API que ofrecen resultados inmediatos (menos de 30 minutos) en contraste a la toma de decisiones llevadas a cabo a través del laboratorio de sanidad animal, donde el plazo medio del resultado del análisis es de 7-10 días hábiles.

MATERIALES Y MÉTODOS.

El trabajo se lleva a cabo en una explotación lechera en Asturias con 120 animales de la raza frisona en lactación. En la lechería se han realizado compras de animales adultos durante los últimos 5 años. La explotación pertenece a una asociación de defensa sanitaria ganadera (ADSG) des del año 1998. En Julio del 2017 y después de un análisis rutinario de control serológico de la ADSG, se detecta la circulación del virus BVD al observar que los animales presentaban anticuerpos (Ac) frente al BVD. Como consecuencia se realizó un segundo muestreo de los animales. En el segundo muestreo se tomaron muestras de la leche del tanque en busca de la presencia de Ac con la finalidad de observar si había una circulación del virus en los animales en lactación, se tomaron muestras de sueros de las vacas secas y todas las novillas y se analizaron frente a Ac y antígeno (Ag). Los resultados del análisis fueron negativos frente a Ag de BVD en el tanque de leche. En las muestras de suero se detectaron 6 animales API que se confirmaron con sangre y cartílago. Al tratarse de una explotación perteneciente a un programa de control sanitario, se eliminaron los API del rebaño. Posteriormente se establece una monitorización de los nuevos nacimientos mediante el kit IDEXX BVDV Ag Point-of-care Test [Sensibilidad 100% (96-100%) y Especificidad (98.5-100%)][1]. El test consiste en un kit rápido de ELISA en la que se analiza una muestra de cartílago auricular de todos los animales recién nacidos en busca de la presencia de Ag. En el caso de los animales con resultado positivo se vuelve a realizar una muestra de confirmación a los 21 días. Con la finalidad de comprobar el buen funcionamiento del kit se comprobaron 10 animales muestreados con las pruebas del laboratorio (6 positivos y 4 negativos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las coincidencias de los resultados de los 10 animales comprobados mediante las pruebas de laboratorio y reevaluadas mediante el kit IDEXX BVDV Ag Point-of-care Test fueron coincidentes en las 10 muestras evaluadas. La implantación de un programa sanitario que implique la eliminación de los animales se ve favorecida sanitaria y económicamente por la pronta toma de decisiones. El kit IDEXX BVDV Ag Point-of-care Test ofrece los resultados de las muestras analizadas en menos de 30 minutos frente a los 10 días hábiles en los que suele tardar el laboratorio en entregar los resultados des de la fecha de recepción de la muestra. Dado que el coste medio de cría por ternero y día se establece en 2.43 euros[2], el ahorro en el tiempo de detección de APIs y de la toma de decisiones en el caso de los animales positivos permite un ahorro económico de al menos 24€ por animal positivo. En el ámbito sanitario, permite la inmediata eliminación de los APIs, evitando así la continua eliminación de unidades víricas (de hasta 10 millones de unidades víricas/día/API[1]) que podrían mantener la circulación del BVD en el rebaño. Por otro lado permiten la libertad de manejo de los animales negativos desde el primer día de vida, ofreciendo ventajas para el flujo de animales dentro de los distintos lotes del rebaño.

CONCLUSIÓN

El uso del kit IDEXX BVDV Ag Point-of-care Test ofrece una rápida detección de API, permitiendo una pronta toma de decisiones y reduciendo el coste económico y sanitario que ocasiona el mantener en la explotación los APIs durante el tiempo entre el envío de las muestras al laboratorio y la posterior recepción de los resultados.

BIBLIOGRAFIA.

1. http://www.idexx.es/pdf/es_es/livestock-poultry/BVDV_Ag_POC_Dairy.pdf
2. Álvarez A., Cabrera VE., Heras J. Rangos de rentabilidad en explotaciones pequeñas y medianas de vacuno lechero en el noreste de España durante el año 2015. XXI Congreso ANEMBE de medicina bovina. p. 232, mayo 2016.

DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES PUNTOS DE MEJORA IDENTIFICADOS EN EL MANEJO DE LAS TERNERAS DURANTE LAS PRIMERAS EDADES

Carbonell C, Pilar C, Ibáñez A Elvira L

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios han evaluado la importancia de la fase lactante en las terneras y su repercusión a largo plazo en la vida productiva del animal, evidenciando como tanto el calostro, como el ritmo de crecimiento y la salud en las primeras fases de vida tienen una clara repercusión sobre la futura producción lechera.

Diferentes trabajos caracterizan las prácticas de manejo de las terneras en otros países y su relación con el bienestar, el crecimiento y la salud de las terneras. Estos estudios muestran que el manejo de la recría no es un proceso complicado, de hecho una de las claves del éxito es que sea sencillo y constante. Sin embargo, apenas disponemos de estudios que analicen el manejo de esta fase en las granjas españolas.

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio es identificar los principales puntos de mejora en el manejo de las terneras lactantes de las explotaciones de la Cornisa Cantábrica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparamos una auditoría para registrar la información recopilada durante las visitas que realizamos a las explotaciones que solicitan nuestra asesoría, debido a que presentan problemas de diarrea neonatal y/o síndrome respiratorio bovino en sus terneras. La auditoría consta de 60 preguntas agrupadas en cinco bloques (paridera, calostro, instalaciones, alimentación y sanidad).

Las visitas fueron realizadas por parte del equipo técnico de MSD Animal Health en colaboración con los veterinarios de las distintas ganaderías.

Para el procesado estadístico se realizó un análisis descriptivo utilizando Excel 2010.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hemos analizado los resultados de las auditorías de recría realizadas en 32 explotaciones a lo largo del año 2016 y primer trimestre del 2017. Las explotaciones auditadas se realizaron en explotaciones de tamaño variable, entre 45-350 vacas en ordeño; si bien en su mayoría fueron explotaciones de tamaño medio-alto para la región, contando un 53% con entre 80-200 vacas y un 31% con más de 200 vacas.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que en los cinco bloques analizados cuentan con puntos de mejora, siendo los más frecuentes los que exponemos a continuación.

Ya en el momento del parto, en el 37% de las explotaciones las terneras nacían en el pasillo del corral de las vacas secas; mientras que sólo en un 33% de las explotaciones se contaba con un lugar limpio para los partos.

Con respecto al manejo del calostro, un 34% de las ganaderías administraban el calostro a las terneras normalmente después de las 4 horas; mientras que un 35% sólo administraban dos litros o menos volumen de calostro en la primera toma. Un punto a destacar, es que sólo un 16% de las explotaciones presentaron un riesgo bajo de contaminación, el cual era evaluado en base al manejo, sistemática de refrigeración y/o almacenamiento del calostro, así como a la limpieza de los utensilios con los que se administraba.

En cuanto a las instalaciones, el 66% de las ganaderías presentaron hacinamiento debido a la falta de espacio para la recría. Como consecuencia de ello, en una de las fases más delicadas para las terneras, como es en el primer agrupamiento y su sociabilización, en el 52 % de las ocasiones las terneras disponían de menos de 2 m^2 por animal; mientras que en el 38% el primer agrupamiento se realizaba en un grupo de más de 10 terneras.

Respecto a la alimentación, el 59% de las granjas administraban dos litros por toma, en dos tomas al día del mismo modo, el 70% de las explotaciones administraban la leche en envases que no estaban completamente limpios, mientras que en el 62% el método de trabajo no aseguraba la administración de la leche a la temperatura adecuada (38ºC). Finalmente, en el 35% de las ganaderías que alimentaban a las terneras con lactorreemplazante, la concentración era menor a 100 g/L.

Para finalizar, en el bloque de sanidad es destacable el hecho de que ninguna explotación contaba con ningún registro de la morbilidad en la recría. Además, a pesar de ser explotaciones que presentaban problemas de enfermedad en las terneras, sólo un 57% y 32% tenían un programa vacunal frente a diarrea neonatal o neumonía en la recría, respectivamente. En cambio, el 40% medicaban la leche en determinados periodos o incluso de manera constante.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio confirman que todavía existe margen de mejora en aspectos claves del manejo y los planes de prevención de la enfermedad durante los primeros meses de vida.

El objetivo principal de recriar terneras, es que puedan desarrollar todo su potencial productivo de adultas. Para ello es imprescindible que durante la fase lactante crezcan sanas y con buenas ganancias diarias de peso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen especialmente a todos los veterinarios y ganaderos que han confiado en nosotros para ayudarles en la solución de sus problemas de enfermedad durante la recría y sin cuya colaboración, este estudio no hubiera sido posible.

BIBLIOGRAFÍA

Bach A, Ahedo J, 2008. Record Keeping and Economics of Dairy Heifers. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice

Soberon F y Van Amburgh M, 2013. LACTATION BIOLOGY SYMPOSIUM: The effect of nutrient intake from milk or milk replacer of preweaned dairy calves on lactation milk yield as adults: A meta-analysis of current data. Journal of Animal Science 91:706-12.

Gooden, 2008. Colostrum management for dairy calves. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice 24: 19-39.

Khan MA, Lee HJ, Lee WS, Kim HS, Kim SB, Ki KS, Ha JK, Lee HG, Choi YJ, 2007. Pre- and Postweaning performance of Holtein female calves fed milk through step-down and conventional methods. Journal of Dairy Science 90: 876-885.

Ellingsen K, Mejdell CM, Ottesenb N, Larsen S, Grøndahl AM, 2016. The effect of large milk meals on digestive physiology and behaviour in dairy calves. Physiology and Behavior 154: 169-74.

Lago A, McGuirk SM, Bennett TB, Cook NB y Nordlund KV, 2006. Calf respiratory disease and pen microenvironments in naturally ventilated calf barns in winter. Journal of Dairy Science 89: 4014-4025.

McGuirk SM, 2008. Disease management of dairy calves and heifers. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 24: 139-153.

Svensson C y Liberg P, 2006. The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. Preventive Veterinary Medicine 73: 43-53.

Moore M, Tyler JW, Chigerwe M, Dawes ME, Middleton JR, 2005. Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentration in dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association 226: 1375-1377.

Ontsouka EC, Albrecht C y Bruckmaier RM, 2016. Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. Journal of Dairy Science 99(6): 4111-4123.

Malmuthuge N, Chen Y, Liang G, Goonewardene LA y Guan LL, 2015. Heat-treated colostrum feeding promotes beneficial bacteria colonization in the small intestine of neonatal calves, Journal of Dairy Science 98: 8044-8053.

Meganck V, Hoflack G y Opsomer G, 2014. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. Acta Veterinaria Scandinavica 56: 75.

Vasseur, F. Borderas, R. I. Cue, D. Lefebvre, D Pellerin , J Rushen ,K. M. Wade , and A. M de Passillé ?,2014. Survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare.

PODOLOGÍA Y GESTIÓN

BAÑOS DE PEZUÑAS EN EXPLOTACIONES LECHERAS EN ESPAÑA; ESTUDIO DESCRIPTIVO

Pineda, Peris E, Silva-del-Río N, García-Muñoz A

OBJETIVO

El empleo de pediluvios es una importante herramienta en la prevención y control de las enfermedades infecciosas podales. El objetivo de este estudio fue describir el diseño y las prácticas de manejo de los baños de pezuñas (BP) en las explotaciones de ganado vacuno lechero de nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente trabajo, se visitaron 267 explotaciones de ganado vacuno, seleccionadas mediante un muestreo de conveniencia en 18 provincias españolas. El

número de animales de estas explotaciones varió de 10 a 1750 vacas. En el trascurso de la visita se evaluaron los pediluvios y se realizó una encuesta a los propietarios o encargados de las explotaciones, en la que se abordaban aspectos sobre la prevención de las enfermedades infecciosas podales. La evaluación del diseño y el manejo de los BP, se realizó de acuerdo a los estándares descritos por Cook (2017).

RESULTADOS

De las 267 explotaciones, 137 (51,3%) no utilizaban ningún método de desinfección podal, 125 (46,8%) utilizaban BP y 5(1,9%) utilizaban un método manual de desinfección. Las características del diseño de las explotaciones que usaban métodos de desinfección podal se describen en la tabla 1.Cincolecherías (4%) tenían además un pre-baño de pezuñas con una separación respecto a los BP de 10 cm (n=4) y 1m (n=1). En el 17% de las explotaciones se lavaban las pezuñas en la sala de ordeño antes de que los animales pasaran por el BP. En los aspectos de salud podal estas ganaderías estaban asesoradas por podólogos (29%), veterinarios (22%), distribuidores de medicamentos (18%) u otros (18%), mientras el 12% no recibía asesoramiento.

La mayoría de BP se encontraba a la salida de la sala de ordeño (85%), otras localizaciones fueron dentro de la nave (2%), en los pasillos de acceso(8%) u otra localización (5%). Un 78% de los BP presentaba bordes redondeados, un 67% tenía paredes laterales rectas y un 7% inclinadas. La longitud de los BP fue < 1,5 m (9%), de 1,5 a 1,9 m (50%), de 2 a 2,4 m

(27%), de 2,5 a 2,9 m (5%) y ? 3 m (9%). La anchura de los BP fue < 1m (52%), de 1 a < 2 m (42%) y de ? 2 m (6%). La profundidad tuvo un rango de 3 a 30 cm (profundidad media de 15 cm). El 53% de los BP tenía el suelo rugoso, rallado (24%) o liso (23%).

Todas las explotaciones usaban soluciones desinfectantes en sus BP, como solución de formaldehido (16%), CuSO4 (14%), combinación de productos (42%) o producto comercial (28%). El número de vacas que pasaban por el BP antes de cambiar la solución varió de 45 a 900 vacas (media: 230 vacas). La concentración del producto desinfectante, litros de desinfectante por animal y frecuencia de uso de los baños se detallan en la tabla 2.

Solo un 10% de las lecherías utilizaba los BP en las novillas y un 17% los usaba en vacas secas.

CONCLUSIONES

Nuestro trabajo describe una baja proporción en el empleo de pediluvios en explotaciones lecheras. El diseño y el uso de los BP ofrecen importantes oportunidades de mejora, especialmente en sus dimensiones (la longitud máxima fue mayoritariamente inferior a 3 metros), volumen de desinfectante por vaca (mayoritariamente inferior a 1 l/vaca) y en el empleo de los mismos en reposición y vacas secas. El asesoramiento por parte de veterinarios especialistas en salud podal es clave, para corregir las deficiencias encontradas en este estudio.

Tabla 1. Diseño de las explotaciones con métodos de desinfección podal.

Tipo de estabulación(en explotación con cubículos)	**Total**	**Porcentaje (%)**
Cubículos	113	86.9
Plaza fija	3	2.3
Cama caliente	12	9.2
Mixto	2	1.5
Tipo de suelo		
Slat	13	10.0
Agujeros	8	6.2
Rallado	85	65.4
Hormigón sin rallar	6	4.6
Gomas	6	4.6
Mixto	1	0.8
Material cubículos		
Arena	29	22.3
Paja picada/cascarilla	26	20.0
Colchonetas	50	38.5
cemento	2	1.5
otro	12	9.2
Tipo de limpieza suelo (en explotación con cubículos)		
Arrobadera	88	67.7
Flushing	2	1.5
Tractor	19	14.6
otro	21	16.2
Nº de animales de la explotación		
<25	1	0.8
25-50	9	6.9
51-100	46	35.4
101-150	30	23.1
151-200	10	7.7
>200(numero)	33	25.4

Tabla 2. Concentración, volumen de desinfectante por animal y frecuencia de uso de los baños

Concentración del producto	**%**	
<2%	4	
2- 4%	21	
>4- 6%	35	
>6-8%	17	
>8-10%	13	
>10%	5	
Desconocida	35	
Media (%)	7	
Rango (%)	0.7-30	
Litros/vaca	**Total %**	
<0.5	8	6.4
0.5 a <1	31	24.8
1 a <1.5	29	23.2
1.5 a <2	15	12
>2	42	33.6
Media	1.9	
Rango	0.1 - 12	
Frecuencia de uso Total %		
Diario	7	5
Días alternos	14	11
1d/semana	24	18
2d/semana	15	12
? 3días/semana	6	5
1día/15d	26	20
1día/mes	14	11
Otra frecuencia	24	18

GESTIÓN DE PERSONAL: ANÁLISIS DE LA SITUACIÓN ACTUAL EN GANADERÍAS GALLEGAS

Trillo Y

El **objetivo** del estudio fue describir y analizar la demanda más inminente de las ganaderías gallegas en cuanto a la gestión de personal.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para atraer los participantes del estudio, tanto ganaderos como peones ganaderos, se empleó la plataforma online LideresenBienestar, en la cual se divulgan los valores que deben girar en torno al bienestar animal y personal para contribuir a la eficiencia en el manejo de granja.

La selección de peones ganaderos se anunció en diferentes medios de comunicación de ofertas laborales para reclutar nuevos perfiles sin experiencia pero con un alto interés inicial por el sector. Para ello los demandantes de empleo superaron una serie de fases: cuestionario de situación personal actual, test de personalidad y dos pruebas teóricas tras recibir un temario de formación básica. Además cada candidato debía permanecer en lista de espera al menos dos semanas para asegurar el interés por el puesto antes de aceptar otro trabajo. Una vez seleccionado, el trabajador se incorporaba en fase de prueba y formación en granja durante 15 días. Realizamos al menos dos visitas para resolver dudas, explicar conceptos de manejo cerciorándonos que el trabajador comprendía el porqué de las labores, resolvíamos diferencias entre personalidades, posibles conflictos, y monitorizábamos el progreso del candidato y la satisfacción de ambas partes.

Los **resultados** descritos a continuación corresponden al periodo de 6 m comprendido entre Marzo-Sept 2017:

Candidatos-trabajadores: contactaron 1.232 personas interesadas en conocer la oferta de trabajo, sin embargo solo 80 comenzaron el proceso de selección:

El 70% (n=56) abandonó el proceso tras superar alguna de las fases.

El 30% (n=24) superó todas las fases, de los cuales 14 no fueron contratados por diversas limitaciones, destacando la incapacidad económica de desplazarse a la entrevista (n=8).

Se contrataron 10 personas, de las cuales fracasaron 6, bien por dificultades físicas y/o psicológicas para desempeñar el trabajo (n=3) o por las precarias condiciones laborales y/o el trato inadecuado por parte del empresario-ganadero (n=3).

En los 4 casos de éxito, los candidatos que aceptaron el puesto tenían el mismo perfil: situación de necesidad familiar. Sin embargo también se midió el grado de satisfacción del trabajador por medio del interés de aprendizaje (IA y manejo de vacas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades), eficiencia (incremento en rapidez y calidad del ordeño), cumplimiento de horarios, así como la comunicación continua con el empleador y nuestra plataforma informando de su estado, resultando positiva en dos de los casos.

Empresarios-ganaderos: contactaron 54 ganaderías (30 – 320 vacas en ordeño) interesadas en formar parte del estudio experimental:

Tres ganaderos reconocieron que precisaban ayuda con el liderazgo de la explotación sin embargo no todos los socios asumían dicha necesidad.

Un ganadero reconoció posibles problemas relacionados con la motivación de los trabajadores ya que no encontraba otra explicación para el abandono precipitado de los mismos, sin embargo, a nuestro juicio también el número de horas, la injusta repartición de tareas y la dificultad de las mismas al inicio de la contratación, usadas como método de testaje de la validez del trabajador, influían en su fuga.

La mayoría (n=50) solicitaba al menos un trabajador pero solo se auditaron 32 ganaderías ante la posibilidad de incorporar un candidato. Sin embargo, no se pudo cumplir la demanda de todas ellas, bien por falta de personal (n=14) o el rechazo del ganadero por replantear la organización del trabajo y/o una fase de motivación cuando ya existía un trabajador en la ganadería con más de 3 años de experiencia (n=8).

Las restantes 22 ganaderías no fueron auditadas por falta de candidatos que se ajustaran al perfil solicitado, esto es: trabajador con experiencia (n=12), condiciones laborales precarias, considerando salarios mínimos de 750 € con jornadas superiores a 10h de trabajo (n=8).

En **conclusión**,

1. De todos los procesos involucrados en la gestión de personal, la contratación de trabajadores fue la más demandada, sin apenas considerar la organización del trabajo y coordinación de equipos, el liderazgo del ganadero o la formación, monitorización y motivación de personal.
2. La incorporación de personal fracasó en la mayoría de los casos por una baja demanda del puesto (escaso atractivo social) que se retroalimenta negativamente con la precariedad de las condiciones de la oferta (actitud del ganadero).
3. Ningún ganadero demostró actitud de 'líder' por sí mismo (solo cuando intervenimos), sino más bien de 'jefe', mediante la cual consiguieron que los candidatos incorporados en la granja desearan abandonar el puesto y los que no lo hicieron fue por necesidad familiar.
4. La incorporación de nuevo personal y el mantenimiento del existente supone hoy día una necesidad primordial de las ganaderías, sin embargo el ganadero demuestra una falta de conocimientos para gestionar su personal.
5. Tras este estudio, recomendamos y ofrecemos formación a los ganaderos en gestión de personal y, colaboramos con otros organismos, en la divulgación y motivación de la ciudadanía para involucrarse con el rural.

XXIII

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Dejemos huella

2018

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y PÓSTER

PÓSTER



ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

CALIDAD DE LECHE

VALIDACIÓN DE UNA QPCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN MUESTRAS DE LECHE CON CONSERVANTES

Díaz-Cao JM, Prieto A, Díaz P, Benito A, Arnal JL, Baselga R, López-Lorenzo G, Panadero R, López C, Iglesias A, Pombo MB , Barreal ML , Lorenzana R , Morrondo P, Díez-Baños P, Fernández G

El diagnóstico precoz de mamitis es muy importante de cara a la optimización del rendimiento económico de las explotaciones. El cultivo microbiológico es la técnica diagnóstica de referencia para el diagnóstico, pero requiere la viabilidad del microorganismo en la muestra. Por tanto, no puede utilizarse en muestras que utilicen conservantes como las procedentes, por ejemplo de análisis de calidad de leche, control lechero, etc. ya que muchos de los conservantes utilizados tienen propiedades antimicrobiocidas que hacen que el cultivo no sea la técnica adecuada. La qPCR ha probado ser también una valiosa herramienta para el diagnóstico de mamitis con una alta sensibilidad y especificidad. Al no requerir la viabilidad de los microorganismos, la qPCR podría emplearse como una alternativa para el diagnóstico siendo posible utilizarla en muestras que lleven conservantes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo ha sido validar el uso de la qPCR para muestras con conservantes, utilizando como referencia muestras positivas y negativas mediante cultivo bacteriológico para dos patógenos de reconocida importancia en la etiología de las mamitis bovinas: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*.

La validación se realizó utilizando un panel de muestras de referencia negativas y positivas para cada patógeno que se utilizaron como controles. Las muestras se recogieron durante 2014-2016 procedentes de explotaciones de bovino lechero de Galicia. Se tomaron dos tipos de muestra: mezcla de cuarterones de un animal y tanque. De cada una de las muestras disponibles se separaron dos alícuotas: una sin conservante, para cultivo, y a la otra se le añadió conservante y se utilizó para realizar la qPCR. El conservante utilizado en las muestras de cuarterón fue bronopol y en las muestras de tanque, azidiol. Para considerar las muestras como controles negativos se exigió la ausencia de aislamiento del patógeno y la procedencia de explotaciones sin ningún historial de infecciones por el patógeno examinado. Las muestras fueron consideradas controles positivos cuando se aisló en cultivo puro al patógeno en la muestra (*Staph. aureus*: >100 cfu/ml; *Strep. agalactiae*: >500 cfu/ml) y eran procedentes de explotaciones con historial previo de infecciones por ese patógeno. Adicionalmente, se recogieron muestras que fueron consideradas dudosas cuando procedieron de explotaciones con historial reciente de infecciones detectadas, pero que resultaron negativas al cultivo.

El cultivo se realizó siguiendo las recomendaciones del National Mastitis Council. La extracción de ADN se realizó utilizando un kit comercial (Roche, Alemania) y los kits de qPCR comerciales utilizados fueron: EXOone *Staph. aureus* oneMIX y EXOone *Strep. agalactiae* oneMIX (EXOPOL, España). Los indicadores de validez diagnóstica fueron calculados con el programa Epidat 3.1.

En total, el estudio incluyó 295 muestras individuales para *Staph. aureus,* de las cuales 47 se emplearon como controles positivos, 95 como negativos y 111 fueron muestras dudosas. Para *Strep. agalactiae*, se dispuso de 212 muestras individuales -57 controles positivos, 92 negativos y 63 muestras dudosas- y 117 muestras de tanque: 8 positivas, 101 negativas y 8 dudosas.

Respecto al panel de referencia para *Staph. aureus,* 46/47 de los controles positivos resultaron positivos mediante qPCR y todos los controles negativos (95/95) fueron también negativos mediante qPCR (sensibilidad = 97,8%, especificidad = 100%, índice de Youden = 0,98). En *Strep. agalactiae*, respecto a las muestras de cuarteron, 57/57 de los controles positivos resultaron positivos mediante qPCR y todos los controles negativos resultaron negativos mediante qPCR 92/92 (sensibilidad = 100%, especificidad = 100%, índice de Youden = 1). En muestras de tanque, 7/8 resultaron positivas mediante qPCR y todas las negativas resultaron negativas (101/101) (sensibilidad = 87,5%, especificidad = 100%, índice de Youden = 0,9). Los resultados obtenidos mostraron excelentes valores de concordancia con las muestras de referencia para los dos patógenos: 99,3% para *Staph. aureus* y 100% y 99,1% para *Strep. agalactiae* en muestras de leche y de tanque respectivamente.

Respecto a las muestras dudosas, 6/111 (5,4%) fueron positivas para *Stap. aureus*, y 9/63 (14,3%) muestras de cuarterones y 6/8 (75%) de tanque fueron positivas para *Strep. agalactiae*. Si consideramos estos resultados junto a los valores de especificidad obtenidos anteriormente, estos resultados señalan la posibilidad de que la qPCR sea capaz de detectar más positivos que el cultivo bajo ciertas condiciones. Esto se produce en baja proporción en las muestras procedentes de animales individuales. Sin embargo, la proporción es destacable en caso de muestras de tanque de *Strep. agalactiae*, y resulta muy relevante teniendo en cuenta la epidemiologia de este patógeno. Esto señala una potencial aptitud de esta técnica para la monitorización de la infección con este patógeno y sugiere una mejora de la detección precoz en tanque en comparación con el cultivo.

Los resultados de este estudio muestran una buena aptitud diagnóstica de la qPCR señalándola como una herramienta útil para aprovechar muestras con conservantes para realizar el diagnóstico de mamitis. El uso de esta técnica abre la posibilidad al diseño de estrategias diagnósticas integradas en la toma rutinaria de muestras para distintos servicios (análisis de calidad, control lechero...) que pueden permitir una mejor monitorización de las mamitis bovinas.

Este trabajo está financiado por las ayudas para la Consolidación y Estructuración de Grupos de Referencia Competitiva (GRC2015/003, Xunta de Galicia) y de Consolidación y Estructuración de unidades de investigación competitivas-Redes (2017-PG117, Xunta de Galicia)0.

PREVALENCE STUDY ON PATHOGENS PRESENT IN SPAIN USING UDDERCHECK

Ordis P, Mato I, Barreto M

UDDERCHECK is a reliable diagnostic tool that uses a new methodology to collect milk samples and detect the major mastitis causative agents. UDDERCHECK can be used to complement Somatic Cell Count (SCC) and bacterial culture to monitor mastitis at a herd level[1,2]. Milk samples from Spain have been analysed from 2011 until 2016. The aim of this study is to show the results obtained from 673 samples analysed.

METHOD AND MATERIAL

A total of 673 Bulk Tank Milk (BTM) and Mastitis Pool samples were collected from different dairy farms in Spain. The samples were taken according to the UDDERCHECK instructions. Im-

pregnating the designated areas (BTM and Mastitis Pool) on the FTA card with 250ul of the respective milk sample[3] and sent by ordinary mail to DIAGNOS (HIPRA) in Amer, Girona, Spain.

The samples were processed and tested using the Real-Time Multiplex PCR assay as previously described[3], to detect the presence of *Staphylococcus aureus, Escherichia coli,* Coagulase Negative Staphylococci (CNS) and coliforms. In addition to this technique developed for STARTCHECK, all collected samples were tested to detect the presence of *Streptococcus uberis* with the objective of investigating the adequacy of including this pathogen in a more evolved diagnostic tool called UDDERCHECK.

The results were determined as positive or negative based on Cycle threshold (Ct) values, with Ct values below 37 being considered as positive.

RESULTS

Table1: Results for each specific pathogen.

	2011	2012	2013	2014	2015	2016
S. uberis	27%	34%	45%	44%	50%	46%
E. coli	49%	59%	58%	82%	75%	74%
Other						
coli-forms	32%	27%	15%	36%	37%	36%
CNS	97%	98%	99%	97%	100%	97%
S. au-reus	8%	13%	15%	35%	27%	31%
Samples	37	176	80	158	135	87

Graph 1: Evolution of the prevalence for the pathogens studied during 2011 to 2016.

UDDERCHECK is a good diagnostic tool to identify pathogenic bacteria present in milk samples. The high specificity and sensitivity circumvents limitations experienced with bacteriology. The data shown above reflects that in Spain there is a trend towards more environmental pathogens like *Strep. uberis* and *E. coli*.

Moreover, this indicates that as environmental pathogens are becoming more prevalent on farms, this will pose a higher risk for pathogens like *Strep. uberis* to become a serious threat to the farms all over Spain.

Therefore, further investigation is needed and awareness of *Strep. uberis* should be increased on farms.

ACKNOWLEDGMENTS

The author acknowledges the assistance provided by the staff of DIAGNOS processing and analysing the samples.

REFERENCES

1. Menezes, A., Guix, R., Zalduendo, D., Valls, L. and Maldonado, J. 2012. STARTCHECK®: A New PCR Diagnostic tool for Bovine Mastitis Management. Laboratorios HIPRA S.A., Avda. La Selva 135, 17170 Amer (Girona), Spain.
2. Azevedo, C., Pacheco, D., Soares L.,Romão, R., Moitoso, M., Maldonado, J., Guix, R., Simões, J. (2016) Prevalence of contagious and environmental mastitis-causing bacteria in bulk tank milk and its relationships with milking practices of dairy cattle herds in São Miguel Island (Azores). Trop Anim Health Prod 48. doi:10.1007/s11250-015-0973-6
3. Valls, L., Lazaro, M., Jubert, A., Guix, R. and Maldonado, J. 2010. A New methodology for detection and quantification of pathogenic bacteria in bovine bulk tank milk. Proc. EAVLD 1st Congress.

IMPACTO DE UN BROTE DE LEPTOSPIROSIS EN LA SALUD DE UBRE DEL REBAÑO

Franquesa O, Herrera D, Hurtado L, Heras J

INTRODUCCIÓN

En la bibliografía científica podemos encontrar muchas referencias sobre el efecto de una infección por Leptospira en el rendimiento reproductivo de la vaca lechera, pero en cambio, existe muy poca bibliografía respecto al impacto que estas infecciones pueden tener sobre la salud de ubre. El siguiente caso clínico pretende mostrar el efecto que pudimos observar sobre la salud de ubre del rebaño por un brote de leptospirosis.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

El caso clínico tuvo lugar en una explotación lechera del noreste peninsular con 850 vacas en ordeño aproximadamente. La explotación gozaba de una excelente salud de ubre y calidad de leche, con recuentos celulares de taque por debajo de las 200.000 células somáticas y un porcentaje de nuevos casos de mamitis clínicas inferior al 3% mensual. En la explotación se ordeña 3 veces al día con una sala de ordeño de 2x10.

Las vacas en lactación están alojadas en cubículos con cama de compost que se arreglan a rastrillo diariamente y se rellenan dos veces por semana. Las vacas secas se encuentran en otra explotación vecina, y aunque disponen de zona de cama caliente con paja, disponen de acceso al prado y a una zona de bosque done se encuentran la mayoría del tiempo.

Como se observa en el gráfico, el recuento de células somáticas en tanque estaba estabilizado por debajo de las 200.000 células somáticas, con algunas excepciones en los meses de verano, donde podía superar muy ligeramente este límite. Se observa que a partir de septiembre de 2016 el recuento celular empieza a subir de forma alarmante llegando a una media en el mes de enero de 2017 de 281.000 RCS. Durante los meses de diciembre de 2016 y enero de 2017 se registran algunas entregas de leche con picos por encima de las

400.000 rcs

Se observa el mismo comportamiento en cuanto a mamitis clínicas. Se pasa de tener una incidencia inferior al 3% mensual en nuevos casos de mamitis a picos de presentación clínica de hasta el 11,8% mensual. La presentación de estas mamitis clínicas es un tanto inusual. Se observa alteración en los cuatro cuartos al mismo tiempo, leche de aspecto anormal con muchos grumos o muy espesa, sin aparente inflamación de la glándula mamaria y una drástica bajada de la producción de leche de los animales afectados.

Las muestras de leche remitidas al Laboratori Interprofessional de Catalunya (ALLIC) para cultivo microbiológico dieron en su mayoría resultados negativos (sin crecimiento) y el resto eran bacterias ambientales (CNS, coliformes, etc.)

Los animales con mamitis clínica se trataron durante 3-4 días con antibiótico intramamario y anitiinflamatorios y se observó que la mayoría de los animales fueron recuperando lentamente la producción a los 5-6 del tratamiento.

Después de revisar el estado de los parques donde se alojan los animales, revisar el funcionamiento de la máquina de ordeño, verificar el cumplimiento de la rutina de ordeño establecida en la explotación y evaluar los resultados de laboratorio no había una explicación evidente al brote que se estaba dando en la explotación.

La respuesta llego a finales del mes de noviembre del 2016 cuando se empezó a observar un incremento en los abortos del último tercio de gestación. Un total de 32 animales abor-

taron y tuvieron que ser destinados a matadero. Los veterinarios clínicos de la explotación (Vether Girona SL), después de muestrear a los animales, diagnosticaron a mediados del mes de diciembre un brote de leptospirosis por L. icterohaemorrhagiae y L. pomona.

A partir de aquí se procede al tratamiento de todos los animales en periodo de secado y de todos los animales con fecha prevista de secado en los siguientes dos meses, con el fin de prevenir nuevos abortos. El tratamiento se realiza con oxitetraciclinas

Las mamitis clínicas se dejan de tratar con antibiótico y solamente se aplica antiinflamatorio, con idénticos resultados de recuperación.

Sin disponibilidad de una vacuna comercial para este serotipo de leptospira, se decide vacunar con una autovacuna de L. Pomona. La primera vacunación se realiza a mediados de enero y se revacunan los animales a las 3 semanas. Como podemos observar en los gráficos la reacción de los animales a la vacunación fue muy positiva. A partir de final del mes de enero se observa una mejora drástica en los casos de mamitis clínica y una recuperación de los recuentos celulares de tanque normales para esa explotación.

CONCLUSIONES

La infección por leptospira en vaca lechera tiene muchas repercusiones. Además de sobre el reproductivo puede tener graves consecuencias sobre la salud de ubre y las mamitis.

No fue posible diagnosticar la presencia de L. pomona en leche, con lo que no es posible afirmar que hubiera una infección en la glándula mamaria. Las mamitis clínicas observadas parecen responder más al proceso infeccioso que sufre el animal más que a una infección directa de la ubre.

La autovacuna contra L. pomona resultó de gran efectividad para resolver el caso clínico en esta explotación.

REPRODUCCIÓN

RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DEL GANADO VACUNO EN DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS DEL NORTE DE ESPAÑA

Pereira V, Rodríguez R, Miranda M, Fouz R, Orjales I, López M

OBJETIVOS

La agricultura ecológica es muy dependiente de los recursos locales y está muy condicionada por la estricta regulación asociada al uso de productos químicos y tratamientos alopáticos. Es importante tener en cuenta estos factores para criar animales adecuadamente adaptados a las condiciones de producción en ecológico. En las últimas décadas la selección de vacas lecheras de raza frisona se ha centrado casi exclusivamente en la producción de leche, obteniendo vacas con un bajo rendimiento reproductivo. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el rendimiento reproductivo (número de servicios por concepción, intervalo entre partos, intervalo parto primer servicio, intervalo parto concepción, edad al primer servicio, edad a la primera concepción y edad al primer parto) de vacas frisonas en sistemas de producción ecológica del Norte de España, comparándolo con el obtenido en sistemas convencionales (basados en pastoreo y sin pastoreo) y en otras razas o cruces criados en sistemas ecológicos de producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se recogieron en un subconjunto de explotaciones ecológicas (n=10), de explotaciones convencionales que basaban su alimentación en el pastoreo (n=5) y de explotaciones convencionales en las que no había pastoreo (n=5) representativas del Norte de España. En todas las granjas convencionales y en 3 de las ecológicas la única raza existente fue la American Holstein-Friesian. En las otras 7 granjas ecológicas existían diferentes razas, entre las que también destacaba la raza Holstein-Friesian o sus cruces. Los datos relacionados con los parámetros reproductivos se recolectaron entre los años 2013 y 2017 durante las visitas a las explotaciones o utilizando el Registro de Explotaciones; las preguntas relacionadas con el manejo reproductivo se las planteamos a los ganaderos durante las visitas. Para realizar el análisis estadístico empleamos un modelo lineal general mixto para comparar el rendimiento reproductivo de los diferentes sistemas productivos y las diferentes razas.

RESULTADOS

Los ganaderos nos proporcionaron toda la información acerca de la gestión reproductiva. Las principales diferencias entre los sistemas productivos fueron el uso de tratamientos reproductivos y las técnicas de detección de celo empeladas. Por un lado, la ganadería ecológica no utiliza tratamientos reproductivos, salvo en casos de enfermedad grave de las vacas, y las explotaciones ganaderas convencionales basadas en pastoreo usan pocos o incluso ningún tipo de tratamientos reproductivos. Por otro lado, las explotaciones convencionales que no usan pastoreo utilizan muchos tratamientos reproductivos (programas para sincronizar la reproducción) que les proporciona un control absoluto sobre la reproducción. Otro punto importante en el que los sistemas de producción difieren es en las técnicas empleadas para la detección de celo. Mientras que los sistemas ecológicos y sin pastoreo tienen un patrón claro para detectar el celo, en los sistemas basados en el pastoreo los ganaderos tratan de detectar el celo mientras realizan otras actividades.

Con respecto al rendimiento reproductivo de la raza Holstein-Friesian en función del sistema de producción empleado, encontramos diferencias estadísticamente significativas para el intervalo parto primer servicio y para el intervalo parto concepción, siendo más corto en los sistemas en ecológico en comparación con los sistemas convencionales basados en pastoreo, los sistemas convencionales sin pastoreo de ganado mostraron valores intermedios. Con respecto al rendimiento reproductivo de las diferentes raza estudiadas, las vacas de raza frisona mostraron un intervalo entre partos significativamente más alto y un mayor intervalo parto primer servicio y parto concepción que otras razas (tanto puras como cruces).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que las vacas frisonas criadas en sistemas ecológicos en el Norte de España muestran un rendimiento reproductivo similar a las criadas en sistemas convencionales sin pastoreo, y los métodos para la detección del celo funcionan claramente mejor que en los sistemas convencionales basados en pastoreo. Al comparar, dentro de los sistemas ecológicos, las vacas frisonas con otras razas o sus cruces, solo observamos resultados peores para el intervalo entre partos, el intervalo parto primer servicio y parto concepción en los cruces, lo que indica una vez más que la detección del celo debe manejarse cuidadosamente en la granja para mejorar el rendimiento reproductivo. Aparte de esto, ningún parámetro reproductivo evaluado en nuestro estudio indicó que las vacas frisonas en ecológico se comportaran peor desde el punto

de vista reproductivo que otras razas o cruces de las mismas granjas, o que las vacas frisonas criadas en sistemas convencionales.

LA IMPORTANCIA DE ELEGIR UN BUEN SEMENTAL: TOROS JÓVENES DEL CENTRO DE TESTAJE DE LA RAZA BRUNA DELS PIRINEUS CON VALORACIÓN DE SU APTITUD REPRODUCTIVA

Fina MOrriols M, Casellas J, Piedrafita J, Rodríguez-Gil JE, Rigau T

En la ganadería de producción de carne con vacas nodrizas es importante tener en cuenta los niveles de rentabilidad necesarios para mantener la empresa ganadera. Un buen objetivo es procurar que la vaca tenga un parto al año. Existen varios caminos para alcanzar este objetivo, y el de la eficiencia reproductiva del toro es uno de ellos y muy importante. La valoración de la aptitud reproductiva permite predecir su eficiencia reproductiva y deberá permitir identificar aquellos ejemplares no aptos como reproductores y evitar que puedan incidir negativamente en los niveles de productividad del rebaño, en los cuales se emplea la monta natural como sistema de manejo reproductivo. Teniendo en cuenta lo expuesto, en el centro de testaje de *Bon Repòs* (*Gavet de la Conca*, *Lleida*) de la *Federació Catalana de la Raça Bruna dels Pirineus* (FEBRUPI) se desarrolla la valoración de sementales jóvenes por parte técnicos veterinarios de la *Facultat de Veterinària* de la *Universitat Autònoma de Barcelona*.

Las pruebas de valoración individual de machos jóvenes sirven para identificar aquellos futuros sementales mejorantes de la raza. Se realizan al finalizar cada serie de testaje mediante una exploración visual del aparato reproductor, que permitirá descartar posibles anomalías morfológicas, una prueba de la calidad seminal mediante la recogida de un eyaculado de cada individuo con la técnica de electro-eyaculación, y además se ha incorporado otro parámetro muy importante como es la medición de la circunferencia escrotal y últimamente se ha iniciado la toma de datos del área pélvica para ampliar las herramientas de selección de los animales. La circunferencia escrotal se mide mediante una cinta métrica en la zona escrotal de mayor diámetro y con una precisión de 0,5 cm. El área pélvica se obtiene con un pelvímetro introducido vía rectal para medir la altura y anchura del canal pélvico y luego se multiplican las dos medidas para obtener el área.

Los animales del estudio provienen de explotaciones que participan en el Programa de Control de Rendimientos y Mejora Genética de la raza *Bruna dels Pirineus*, una raza bovina de carne utilizada en producción extensiva en los Pirineos catalanes. El estudio que se presenta se ha realizado sobre un total de 297 machos jóvenes durante el período 2008-2018, pertenecientes a 19 series de testaje que tienen lugar en dos épocas del año, otoño-invierno y primavera-verano. Son animales destetados de entre 5 y 8 meses, con genealogía conocida y registrada. Los resultados de las pruebas reproductivas indicaron que la edad en la que se procedía a la valoración seminal era de 11,7 meses [6,9-16,4], con un peso vivo medio de 453 kg [296-696] y un crecimiento medio de 1,35 kg/d (±0,01). La circunferencia escrotal a los 12, 15 y 18 meses fue de 33,9, 35,8 y 37,7 cm, respectivamente. Se ha descrito que este parámetro posee una heredabilidad moderada-alta (0,41-0,57) (Bourdon y Brinks, 1986, Lunstra *et al.*, 1988, Kealey *et al.*, 2006), lo cual sugiere que una rápida mejora de la circunferencia escrotal se puede obtener por selección.

Según los investigadores Moser *et al.*, 1996 y Siddiqui *et al.*, 2008, aquellos machos con una circunferencia escrotal mayor son capaces de preñar más vacas en menor tiempo que los toros con menor circunferencia escrotal, y además, transmiten este mérito a su descendencia masculina y un mejor comportamiento reproductivo a su descendencia femenina. Comparados con los resultados obtenidos por Garcia-Paloma (2015) en la raza Asturiana de los Valles, nuestros resultados indican un mayor desarrollo de la circunferencia escrotal en los terneros de raza *Bruna dels Pirineus*. Se ha propuesto, tal y cómo describieron Arteaga *et al.* (2001) y Brito *et al.* (2012), un mínimo de 30 cm a los 12 meses de edad como punto de umbral para declarar un toro apto, de los cuales un solo animal del estudio no lo alcanzó.

El área pélvica a los 12, 15 y 18 meses fue de 161,6, 191,8 y 222 cm^2, respectivamente. Esta medida se ha descrito como uno de los factores más influyentes en la facilidad de parto junto con el peso al nacimiento. Se ha definido que a la misma edad y peso, el área pélvica de los machos es menor que el de las hembras (Smith, 2005). Estos dos parámetros descritos deben seguir siendo analizados, pero se ha evidenciado la importancia de tenerlos en cuenta y añadirlos al sistema de evaluación propio de la raza para la selección de los terneros procedentes del centro de testaje.

EVALUACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN LECHE MEDIANTE ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO MEDIO (MIR)

Cardoso-Toset F, Jurado-Martos F, Serrano A

INTRODUCCIÓN.

Las vacas vacías cuestan dinero, habiéndose estimado un coste medio de cinco euros por vaca y día en ganaderías de vacuno lechero [1]. Por ello, la detección precoz de vacas vacías puede suponer una estrategia eficaz para mejorar los beneficios. De forma generalizada, el diagnóstico de gestación en vacuno lechero se realiza mediante palpación o ecografía transrectal obteniéndose en vacas adultas un diagnóstico certero en condiciones de campo a partir de los 26 a 30 días post-servicio [2-4]. Como complemento existen en el mercado técnicas de diagnóstico indirecto que detectan marcadores de gestación en muestras de sangre o leche. Entre estas técnicas se encuentra la detección de glucoproteínas asociadas a la gestación (PAGs) consideradas altamente específicas, que pueden ser evaluadas mediante kits comerciales basados en técnicas ELISA a partir de los 28 días post-servicio [5].

La espectroscopía de infrarrojo medio (MIR), es una técnica ampliamente empleada en el análisis de muestras de leche para la determinación de parámetros de calidad como su contenido en grasa, proteína, lactosa o extracto seco magro [6]. En los últimos años se han desarrollado modelos para la determinación de otros parámetros de interés como el contenido en urea, el perfil de ácidos grasos o, más recientemente, el beta-Hidroxibutirato (BHB), como indicador de cetosis [7,8].

En este trabajo se evalúa la posibilidad de realizar el diagnóstico de gestación en ganado bovino lechero a partir de los 28 días post-servicio empleando el análisis mediante espectroscopía MIR como complemento al análisis rutinario de composición físico-química de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Las muestras de leche empleadas fueron recogidas en 14 vaquerías de la zona norte de la provincia de Córdoba entre los meses de noviembre de 2017 y febrero de 2018. Se analizaron

un total de 220 muestras de leche de vacas con al menos 28 días post-servicio mediante un kit ELISA comercial para la detección de PAGs (sensibilidad 98,4% y especificidad 97,4%; IDEXX Milk Pregnancy Test®) tras lo cual, 139 muestras de leche fueron clasificadas como gestantes, 76 como vacías y 5 fueron clasificadas como dudosas y por tanto descartadas del análisis. A su vez, las muestras fueron analizadas por un instrumento de MIR MilkoScan FT+200 TM de FOSS con rango espectral comprendido entre 900 y 5000 cm^{-1}, empleándose para el análisis de leche la zona comprendida entre 900 y 3200 cm^{-1} en la que se encuentran las bandas de interés.

Los espectros fueron procesados con el software de tratamiento quimiométrico WinISI 4 de FOSS empleando los distintos algoritmos disponibles para métodos de identificación tales como: análisis discriminante lineal (basado en crear un modelo de regresión que separa los dos grupos de muestras), correlación espectral (a partir del espectro medio de cada grupo, la asignación se hace por semejanza espectral, RMS), distancia espectral (se calcula la distancia a cada grupo y la muestra desconocida se asigna al grupo con distancia más baja), distancia de Mahalanobis (similar al anterior con distancia de Mahalanobis), análisis de componentes principales, PCA, (se crea un modelo PCA para cada grupo y la muestra se asigna al grupo más parecido). Los resultados del kit ELISA fueron usados como valores de referencia para el desarrollo de dichos modelos.

Para el desarrollo y validación de los modelos se realizó una división aleatoria del colectivo de 215 muestras en un colectivo de calibración constituido por 150 muestras, 94 gestantes y 56 vacías, y un colectivo de validación constituido por 65 muestras, 45 gestantes y 20 vacías.

RESULTADOS.

Los modelos desarrollados con algoritmos basados en análisis discriminante lineal o correlación presentaron muy bajos porcentajes de clasificación correcta (en torno a un 50%). Sin embargo, los modelos desarrollados en base a algoritmos de distancia espectral y de Mahalanobis presentaron un mayor porcentaje de muestras correctamente clasificadas, superando el 90% con una elevada sensibilidad para la detección de muestras de leche procedente de vacas gestantes, por encima del 95%. Por último, los modelos desarrollados a partir de algoritmos basados en el análisis de componentes principales (PCA) presentaron porcentajes de clasificación correcta superiores al 88% con una elevada sensibilidad en la detección de muestras de leche procedentes de vacas vacías, superior al 95%.

Los resultados obtenidos tras la validación de los modelos que obtuvieron mejores porcentajes de clasificación, distancia espectral y PCA, fueron similares, con un porcentaje de clasificación correcta superior al 87% por ambos modelos. En el caso del modelo basado en distancia espectral se obtuvo una sensibilidad de 93% y especificidad de 85% y para el modelo desarrollado a partir del algoritmo de PCA la sensibilidad fue de 85% y la especificidad de 96%.

CONCLUSIONES.

La espectroscopía MIR se está consolidando como una herramienta crítica para aportar información sobre el estado del rebaño debido a su fiabilidad, rapidez de análisis y bajo coste de análisis por muestra. La evaluación de la espectroscopía MIR como herramienta para la detección de vacas gestantes ha proporcionado buenos resultados que indican que esta técnica se podría emplear en un futuro para la detección de vacas vacías. No obstante, para poder usar esta técnica de forma rutinaria es necesario desarrollar modelos con un mayor número de muestras que incluyan de forma representativa factores que pueden modificar la composición de la leche como la estación del año, así como obtener valores de sensibilidad y especificidad superiores al 95% para poder proporcionar resultados fiables.

REFERENCIAS:

[1] De Vries *et al*, Economics of improved reproductive performance in dairy cattle (Publication AN 156), Gainesville FL, University of Florida Institute of Food and Agriculture Science; 2005.

[2] Trasmayo Torres, M. La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino. Sitio Argentino de Producción Animal.

[3] Gutiérrez-Lizarazo, D.E., Báez Sandoval, G.M. La Ultrasonografía en bovinos. Respuestas. 2014; 19(1):99-106.

[4] Reproducción bovina. Libro de ultrasonido con Easi-Scan. BCF Technology.

[5] A. Ricci, P. D. Carvalho, M. C. Amundson, R. H. Fourdraine, L. Vincenti, and P. M. Fricke; Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis.

[6] S. K. Andersen, P. W. Hansen and H. V. Andersen; Vibrational Spectroscopy in the Analysis of Dairy Products and Wine. John Wiley & Sons, 2002

[7] K. L. Wojciechowski and D. M. Barbano; Prediction of fatty acid chain length and unsaturation of milk fat by mid-infrared milk analysis. 2016. J. Dairy Sci. 99:8561–8570

[8] D. E. Santschi, R. Lacroix, J. Durocher, M. Duplessis, R.M. Moore, D.M. Lefebvre, Prevalence of elevated milk ?-hydroxybutyrate concentrations in Holstein cows measured by Fourier-transform infrared analysis in Dairy Herd Improvement milk samples and association with milk yield and components. 2016, J. Dairy Sci. 99: 9263-9270

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración prestada por parte de los servicios técnicos de vacuno lechero de la S.C.A Ganadera del Valle de los Pedroches (COVAP) durante la recolección de muestras y evaluación de los animales en campo.

EFFECT OF THE BOVINE GRANULOCYTE-STIMULATING FACTOR (RBG-CSF) ON UTERINE HEALTH OF POSTPARTUM DAIRY COWS

Lorenzo G, Quintela LA

The aim of the present study is to evaluate the impact of the rbG-CSF on postpartum uterine health. The study was performed in a dairy farm allocated in the northwest of Spain (276 milking cows/per day and 39.92 liters/cow and day, DHI official program). All animals calving from Sep-2016 to June-2017 (n=199) were randomly allocated in two groups: control (n= 103) and IMR (n=96), with same management and nutritional conditions. Cows in IMR group received two doses of a rbG-CSF injectable formulation (Imrestor®, Elanco AH): 7 days before the expected data of calving and the day of calving, respectively. Animals were examined once per week, during the first 6 weeks in postpartum, in order to diagnosis the presence of: retained placenta (RP, presence of fetal membranes 24 hours or more after calving.), metritis (MET, abnormally enlarged

uterus, with a purulent discharge in the vagina or mucopurulent content in uterus, within 21 postpartum days, ppd) and endometritis (EM, purulent or mucopurulent uterine exudate in uterus or the vagina, 21 ppd and without systemic signs). To evaluate the incidence of cytological endometritis (CE), cows were sampled between 35-42 ppd (cutoff for positive: % PMN: 5% of total nucleated cells in the endometrial cytology[1]).

RESULTS: not differences in RP (7.77% vs 10.42%, p=0.51) and MET (32.04 vs 27.08%, p=0.44) incidence between control and IMR groups, respectively. Lower incidence of EM and CE for those cows developing RP o MET for IMR group compared with control group (18.48 vs 52.94%, $p < 0.01$ for EM and 22.22 vs 50%, $p < 0.05$ for CE, respectively). Relative risks of developing EM and CE were 3.57 and 2.25 times higher, respectively, for cows with RP o MET of the control group versus IMR group.

Published papers have described an important role of the PMN during the first ppd on uterine health[2]. During the first postpartum week, there is marked PMN recruitment to clear cellular debris from the placenta and respond to bacterial contamination[2] and PMN levels decline by the forth week postpartum when uterine involution is almost complete[3]. In this way, a negative correlation between cow with high proportion of PMN at 7 days postpartum and proportion of PMN at 7 weeks postpartum has been reported[1] and the association between high uterine PMN population in the later postpartum period and poor reproductive outcome[4] is well known. Besides, administration of rbG-CSF to periparturient dairy cattle enhances the number[5] and activity[6] of the PMN. In conclusion, administration of rbG-CSF decreases the proportion of cows with EM and EC in those cows suffering RP or MET during transition period.

1) Theriogenology 2016 85:1367–74; 2) Theriogenology 2018 104:62-71; 3)Anim Reprod Sci

2014 148:109-14; 4) J Dairy Sci 2011 94:762–70; 5) J Dairy Sci 1991 2448-58; 6) J Dairy Sci

2014 97: 4842-51

CEBO - VARIOS

INTOXICACIÓN BOTULÍNICA EN TERNEROS DE CEBO: CASO CLÍNICO

Estrada C

INTRODUCCIÓN

El botulismo es una intoxicación causada por la ingestión de toxinas producidas por *Clostridium botulinum* en animales domésticos y en el hombre, conociéndose siete tipos (A, B, C, D, E, F, G), siendo el C y D los que revisten una mayor importancia en los animales [1, 2]. Al tratarse de una de las toxinas más potentes conocidas, ésta causa importantes pérdidas cuando afecta a un rebaño. El ganado vacuno no es la excepción para sufrir esta parálisis neuronal periférica [3], que puede ser ingerida a través de la alimentación. El agente causal *Clostridium botulinum*, es un patógeno ubicuo transmitido por el suelo, que prefiere crecer bien en materia orgánica en descomposición [4].

La intoxicación botulínica suele ser fatal ya que la parálisis neuronal causada por la acción de la neurotoxina botulínica en la unión neuromuscular, no puede revertirse con las opciones terapéuticas disponibles. Los signos clínicos iniciales son dificultad progresiva en masticación y deglución, salivación y debilidad. Posteriormente, aparece una parálisis generalizada seguida de muerte por parálisis respiratoria [5,6]. De forma convencional, se sugiere la administración de antitoxina como la primera línea de tratamiento, aunque éste sería exitoso si se inicia antes de que la toxina alcance la placa del extremo motor. Son muchos los casos de botulismo que han intentado tratarse sintomáticamente, pero raramente ha habido una recuperación clínica [7].

CASO CLÍNICO

Se trata de un cebadero de 4000 terneros de distintas razas (frisona, montbeliarde, limusin x charoláis). Los animales son alimentados con pienso compuesto, paja y preparado lácteo, *ad libitum*. En la revisión diaria de la granja se observó en distintos lotes, y de forma aislada, animales postrados en el suelo, con parálisis muscular y con dificultad en la respiración. En el examen físico, se apreció una ausencia de motilidad ruminal, y la revisión neurológica reveló una falta en el tono posterior y tetraparesia. Durante el primer día, aparecieron 10 animales, el segundo 80 y durante los siguientes 7 días desde la aparición del cuadro siguieron apareciendo animales enfermos con un 100% de mortalidad. El segundo día, los 10 animales enfermos aparecieron muertos. En la necropsia de los animales no se observaron signos, ni aparecieron lesiones macroscópicas evidentes, por lo que se tomaron muestras de suero, heces, contenido ruminal y alimentación para su análisis. Se instauró un tratamiento sintomático a todos los animales afectados antes de disponer los resultados laboratoriales, con fluidoterapia IV (suero salino fisiológico suplementado con calcio borogluconado 500 ml de una solución al 23%/20l), antibioterapia, complejo vitamínico B. A lo largo de los 7 días murieron 616 terneros.

RESULTADOS

Los resultados del análisis de pienso y agua se encontraron dentro de los límites de la normalidad. Ante la sospecha de botulismo por sintomatología y datos epidemiológicos se realizo una prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los resultados de la PCR demostraron la presencia de ADN de *Clostridium botulinum* (mosaico) en el preparado lácteo, aunque no en el intestino. Para confirmar el diagnóstico, se procedió al método *in vivo* de bioensayo en ratón, por ser el método "gold estándar" actualmente aceptado para confirmación de la presencia de la neurotoxina botulínica [8]. Para ello, se dispuso de ratones Swiss, y se inoculó por vía intraperitoneal 0,8 ml de suero recepcionado de uno de los animales enfermos, y aquel fue observado constantemente con el fin de detectar signos de enfermedad o muerte. A las 26 horas de la inoculación el ratón muere tras una sintomatología patognomónica de botulismo, consistente en: piloerección, respiración dificultosa, retracción abdominal, debilidad en extremidades, parálisis progresiva y finalmente muerte.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este caso, la negatividad de la PCR específica en las muestras de intestino es debido a la distribución irregular de la bacteria en el aparato digestivo, o bien que los animales hubieran digerido únicamente la toxina, y no la bacteria o sus esporas. La muerte de los animales fue producida por toxina botulínica tipo C/D por ser la que afecta al ganado vacuno. Esta toxina fue vehiculada por el alimento lácteo muestreado. Las esporas no se destruyen a la temperatura de ebullición del agua, pero la toxina es termolábil, por lo que puede ser inactivada si se calienta el alimento a 85 º C durante más de 5 minutos [9]. A nivel de campo, la detección de la fuente de intoxicación previa a los análisis, fue la aparición del mismo cuadro en unas terneras de otra granja, con un plan de alimentación diferente al del cebadero, exceptuando el preparado lácteo.

Fue en el segundo día desde la aparición del primer caso cuando este producto fue retirado de la granja. El botulismo es una intoxicación alimentaria rara pero cuando afecta los índices de mortalidad son muy elevados. En cebaderos de terneros, son necesarias medidas control de la alimentación del ganado con el fin de prevenir este problema, y gestionar correctamente la producción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Davies A, Roberts A, Smart JL and Bradshaw P. Probale botulism in calves Vet. Rec 94:412-414. 1974
2. Simmons GC and Tammemagi. Clostridium botulinum type D as a cause of bovine botulism in Queenslands Aust. Vet. J. 40:123:127. 1964
3. Smart JL and Roberts TA. Bovine botulism Vet. Rec. 101:201-202. 1977
4. Lindström M, Keto-Timonen R, Korkeala H. Botulinum Neurotoxin Risks and Detection in Environment, Agriculture and Food Chains. In: Foster K. (eds) Molecular Aspects of Botulinum Neurotoxin. Current Topics in Neurotoxicity, vol 4. Springer, New York, NY. (2014)
5. Dlabola J, Hashish E, Pauly B, Kubisiak B, Behm I, Heseler R, Schliephake A, Wieler LH, Neubauer H, Seyboldt C. Clostridium botulinumtype D/C intoxicationin a dairy cow stock in Saxony-Anhalt (Germany)--report on an innovative diagnostic approach. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Mar-Apr;129(3-4):111-7. 2016
6. Jean D, Fecteau G, Scott D, Higgins R, and Quessy S. Clostridium botulinum type C intoxication in feedlot steers being fed ensiled poultry litter. Can Vet J. Oct; 36(10): 626–628. 1995
7. Whitlock RH. Botulism in cattle. 6th Annu Symp Adv Clin Vet Med. University of California 1993: 64-71.
8. Hatheway CL. Botulism. In: Laboratory diagnosis of infectious diseases,Volume 1, Chapter 12. (Balows,A.; Hausler Jr.,W. J.; Ohashi, M. & Turano, A. eds.). Springer – Verlag, New York . Pp. 11-133.1988
9. Protocolos de la Red nacional de vigilancia epidemiológica de España Junio 2015

SITUACIÓN ACTUAL DE LAS RAZAS BOVINAS DE ESPAÑA EN EL BNGA

Bartolomé C, Cuevas FJ, Oliet A, Diez RM, Martín M, Tejerina F, Castellanos M, Moreno S

INTRODUCCIÓN

El Banco Nacional de Germoplasma Animal (BNGA) del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente tiene como objetivo ser una copia de seguridad del material genético, que custodian las distintas asociaciones de criadores y las Comunidades Autónomas, de las razas que aparecen en el catálogo oficial de ganado de España.

El material genético procederá preferentemente de razas en peligro de extinción, de animales mejorantes de alta calidad, y/o de animales para garantizar el mantenimiento de la variabilidad genética de las razas.

Los donantes y equipos de recogida de semen/embriones deben cumplir ciertos requisitos sanitarios.

OBJETIVO

Describir el material genético de las diferentes razas bovinas existente en el BNGA (actualmente semen y embriones), así como evidenciar el material necesario para completar la colección genética de las razas, con especial incidencia en el caso de aquellas en peligro de extinción.

MÉTODOS

Se ha analizado la base de datos del BNGA, estructurando la información por donantes, cantidad de dosis seminales, y embriones, correlacionando esta información con el catálogo oficial de razas de ganado de España.

Las recomendaciones para completar el BNGA de cada raza son 25 donantes, 300 dosis en el caso de conservar solo dosis, y de 450 dosis y 280 embriones en el caso de conservar dosis y embriones.

Por la particularidad de los encastes de la raza de Lidia, ésta tiene un estudio a parte.

RESULTADOS

Raza	Dosis	Donantes de semen	Embriones	Donantes de embriones
Albera**				
Alistana-Sanabresa**	2640	22		
Asturiana de la Montaña**	3000	33		
Asturiana de los Valles*	3000	40		
Avileña-Negra Ibérica*	1870	15		
Avileña-Negra Ibérica				
Bociblanca**	480	4		
Berrenda en Colorado**	1335	11	3	2
Berrenda en Negro**	1334	11		
Betizu**				
Blanca Cacereña**				
Blonda de Aquitania***				
Bruna de los Pirineos**				
Cachena**				
Caldelá**				
Canaria**				
Cárdena Andaluza**	2908	6		
Charolesa***				
Fleckvieh***				
Frieiresa**				
Frisona***				
Lidia*	10162	64	199	76
Limiá**				
Limusina***				
Mallorquina**				
Marismeña**				
Menorquina**				
Monchina**				
Morucha*	825	7		
Morucha negra**	225	2		
Murciana-Levantina**				
Negra Andaluza**				
Pajuna**	428	3		
Pallaresa**	0	0		
Palmera**	0	0		
Parda de Montaña*	1840	25		
Parda***	1100	13		

Pasiega**				
Pirenaica*	1200	12		
Retinta*	1565	20		
Rubia Gallega*	3000	25		
Sayaguesa**	2400	20		
Serrana de Teruel**				
Serrana Negra**				
Terreña**				
Tudanca**				
Vianesa**				

*Raza autóctona de fomento

**Raza autóctona en peligro de extinción

***Raza integrada en España

CONCLUSIONES

La colección del BNGA debería completarse para cumplir con las recomendaciones de conservación *exsitu* de todas las razas bovinas españolas.

Las razas autóctonas de fomento están representadas en un 100 %, frente al 28% en el caso de las razas en peligro de extinción.

La no conservación *exsitu* de las razas autóctonas podría acarrear la pérdida irrecuperable de la biodiversidad y del patrimonio genético de España en caso de problemas sanitarios graves.

La extracción y la preparación de dosis seminales y embriones por parte de equipos autorizados es un campo de trabajo para los especialistas veterinarios, pues faltan 28 razas en el BNGA.

Podrían incluirse en el BNGA otro tipo de materiales genéticos como ovocitos o ADN.

BIBLIOGRAFÍA

[1] RD 2129/2008, de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas. Anexo IV, <<BOE>> núm. 23, 27 de enero de 2009.

[2] RD 841/2011, de 17 de junio, por el que se establecen las condiciones básicas de recogida, almacenamiento, distribución y comercialización de material genético de las especies bovina, ovina, caprina y porcina, y de équidos.

[3] RD 2256/1994, de 25 de noviembre, por el que se fija las exigencias de policía sanitaria aplicables a los intercambios intracomunitarios y a las importaciones de esperma de animales de la especie bovina.

[4] RD 855/1992, de 10 de julio, por el que se fijan las condiciones de policía sanitaria aplicables a los intercambios intracomunitarios y alas importaciones procedentes de terceros países de embriones de animales domésticos de la especie bovina

[5] FAO, «Segundo documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de animales de granja», Dirección de Producción y Sanidad Animal, Agriculture and Consumer Protection, 1998.

[6] MAGRAMA - CENSYRA, PNT Gestión del Banco Nacional de Germoplasma Animal (BNGA), Rev.18, Colmenar Viejo, 8 de Julio de 2015.

CONTROL DE RENDIMIENTO CÁRNICO DE LAS RAZAS BERRENDO EN NEGRO Y BERRENDO EN COLORADO EN CENTROS DE TESTAJE EN 2017

Bartolomé C, Cuevas FJ, Valera P, González A, Moreno S

INTRODUCCIÓN

Las razas bovinas Berrendo en Negro (BBN) y Berrendo en Colorado (BBC) son consideradas razas autóctonas en peligro de extinción.

Dentro del programa de mejora de las razas existe la posibilidad de desarrollar un control de rendimiento cárnico.

Los rendimientos cárnicos de las razas BBN y BBC se realizan en centros de testaje en el CENSYRA de Colmenar Viejo y el CENSYRA de Badajoz.

La producción de razas intergadas más cárnicas en nuestro país desplaza el aprovechamiento de razas autóctonas.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es analizar los datos de los rendimientos cárnicos realizados en el año 2017 en los CENSYRAs de Colmenar Viejo y Badajoz, diferenciando las razas entre sí tanto en parámetros cárnicos como morfométricos buscando el origen de las diferencias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cebadero perimetrado.

Machos enteros de diferentes explotaciones.

Trasponder en la oreja identificativo de cada animal, registra la frecuencia con la que entra a comer pienso, y la cantidad suministrada en cada ocasión. La cantidad diaria a ingerir está dosificada en varias tandas para evitar en la mayor medida posible la ingesta de la ración por otro animal.

Consumo de paja *ad libitum*.

Las primeras medidas morfométricas se toman el primer día del primer periodo, una vez que todos los animales han empezado a comer.

Los periodos duran 28 días en ambos centros de testaje, mas en Colmenar Viejo hay 5 periodos y en Badajoz 4.

El último día de cada periodo se pesan los animales y se calcula la Ganancia Media Diaria (GMD) y el Índice de Transformación de pienso (ITP).

El último día del último periodo se vuelven a tomar medidas morfométricas y se comparan con las primeras, midiendo el crecimiento de los animales.

Para la serie de Colmenar Viejo (serie 5): 8 animales BBN y 8 animales BBC.

Para la serie de Badajoz (serie 6): 15 animales BBN y 7 animales BBC.

Para el análisis estadísitico se han analizado los datos del incremento de peso vivo de cada raza y centro de testaje, y se han logaritmizado en base 10.

Se ha realizado un test de aberrantes por raza y centro de testaje. El parámetro tenido en cuenta para este test ha sido el incremento de Peso Vivo entre el final y el principio de la serie.

Así mismo se ha realizado un análisis estadístico entre razas en cada centro de testaje.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL INCREMENTO DE PESO DE CADA RAZA

El test de aberrantes hace eliminar un BBC del centro de testaje de Colmenar Viejo ($P<0.05$), por lo que finalmente se cuenta con 7 animales.

RESULTADOS

COLMENAR VIEJO

Parámetros cárnicos										
	Periodo 1		Periodo 2		Periodo 3		Periodo 4		Periodo 5	
	BBN	BBC	BBN	BBC	BBN	BBC	BBN	BBC	BBN	BBC
GMD (Kg)	0.611	0.577	0.417	1.005	1.138	1.138	1.034	1.556	0.781	1.102
ITP	7.899	3.416	11.048	6.931	6.509	6.105	8.783	5.796	10.297	7.067

Parámetros morfométricos (crecimiento en cm)						
	Altura a la cruz	Altura a las palomillas	Longitud cruz-ileon	Anchura de la grupa	Diámetro bicostal	Perímetro torácico
BBN	2.15	5.12	3.87	6.63	4.25	18.13
BBC	1.71	3.14	8.71	8.71	7.71	28.43

BADAJOZ

Parámetros cárnicos								
	Periodo 1		Periodo 2		Periodo 3		Periodo 4	
	BBN	BBC	BBN	BBC	BBN	BBC	BBN	BBC
GMD (Kg)	1.390	1.561	1.390	1.546	1.064 1	.260	1.431	1.327
ITP	5.851	1.434	6.080	5.096	8.269	6.061	5.445	5.610

Parámetros morfométricos (crecimiento en cm)						
	Altura a la cruz	Altura a las palomillas	Longitud total	Anchura de la grupa	Diámetro bicostal	Perímetro torácico
BBN	8.07	9.67	11.6	4.47	4	26.33
BBC	6.71	10.71	22.29	6.86	6	33.14

No hay diferencias significativas en el incremento de peso vivo de cada raza en Badajoz, mas sí en Colmenar ($P<0.05$).

En Colmenar Viejo, hay influencia ($P<0.05$) entre el peso de entrada a testaje de los BBC y el incremento de peso en la serie.

CONCLUSIONES

En ambos testajes, la raza BBC supera en índices de GMD, IT y crecimiento morfológico al BBN.

No hay diferencias significativas entre razas en Badajoz.

Las diferencias presentes entre razas en Colmenar Viejo se deben al peso de entrada en la serie (P95%), los BBN entraron pesando más que los BBC.

Se debería homogeneizar el número periodos entre centros de testaje, así como el peso a la entrada.

Para futuros estudios sería interesante ver la progresión de las razas en las diferentes series de testaje para establecer unas conclusiones más sólidas

BIBLIOGRAFÍA

[1] Hanset, R., Michaux, C., Stasse, A., "Relationships between growth rate, carcass composition, feed intake, feed conversion ratio and income in four biological types of cattle"

A. Genet Sel Evol. 1987.

[2] Liu, M. F. *et al*, "A study on the variation of feed efficiency in station tested beef bulls" Canadian journal of animal science, 2000.

[3] RD 2129/2008, de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas.

[4] Estadística aplicada en Laboratorios Químicos. ASECAL 22 y 23 de Febrero de 2017.

SANIDAD

PARÁSITOS DIGESTIVOS EN GRANJAS INTENSIVAS DE GANADO VACUNO DE LECHE Y SU RELACIÓN CON DISTINTOS INDICADORES DE BIENESTAR ANIMAL

Díaz P, Panadero R, Verdes S, Pérez A, Remesar S, Díaz-Cao JM, Nebot C, Prieto A, Franco CM, López G, Iglesias A, Quintela L, Fernández G, Diez-Baños P

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de productos alimenticios de origen animal a nivel mundial ha intensificado considerablemente algunos sectores ganaderos, acompañándose, en algunos casos, de un deterioro en las condiciones de bienestar animal. Las infecciones parasitarias no solo constituyen una de las principales causas de pérdidas económicas para el sector ganadero sino que menoscaban considerablemente el bienestar y la salud de los animales. El principal objetivo de este estudio consistió en detectar los parásitos digestivos más frecuentes en granjas intensivas de vacuno de leche de Galicia, así como identificar aquellos parámetros relacionados con el bienestar animal que pueden favorecer su presencia, permitiendo una intervención más efectiva para lograr su control y prevención.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 2015 se tomaron muestras en 50 explotaciones de ganado vacuno de leche de la provincia de Lugo. Todos los animales eran de raza frisona y se mantenían en estabulación permanente libre, si bien en un 10% las explotaciones los animales salían esporádicamente al pasto. En cada granja se recogió una mezcla de heces de 5 animales adultos, que se analizó mediante las técnicas coprológicas de flotación en solución salina saturada y sedimentación, y se realizó una encuesta en la que consideraron una serie de parámetros indicadores de

bienestar animal relacionados con los animales, instalaciones y manejo (Trillo y col., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el 14% de las granjas analizadas se detectó algún parásito digestivo; se debe considerar que nuestros resultados pueden subestimar el porcentaje real de infección, debido a que el análisis de mezclas de heces tiene una sensibilidad reducida cuando la prevalencia intrarebaño o la eliminación de formas fecales en heces es baja. Los paranfistómidos fueron los parásitos más frecuentes (12%), con recuentos medios de 47,9±53,3 huevos por gramo de heces (hpg), seguidos por los nematodos gastrointestinales (10%; 110±41,8 hpg) y los coccidios (4%; 50±0 opg). Al no realizarse coprocultivos ni esporulación de los ooquistes de *Eimeria* spp. no se pudo estimar la presencia de géneros de nematodos gastrointestinales y especies de coccidios con mayor patogenicidad. Llama la atención la presencia tan elevada de trematodos ruminales teniendo en cuenta que de las 6 granjas que resultaron positivas solo en una los animales salían de vez en cuando al pasto. El ciclo de estos parásitos es indirecto y necesita la presencia del hospedador intermediario, un caracol que se localiza en pastos húmedos, para completarlo. Las metacercarias se encuentran enquistadas en la hierba por lo que para que el ganado se infecte debe entrar en contacto con ellas en el pasto, o ingiriendo hierba fresca o heno y ensilado mal conservados. Andrews (1999) demostró que las metacercarias de *Fasciola hepatica* pueden sobrevivir 8 meses en heno recogido en días lluviosos. Estos resultados subrayan la importancia de la alimentación con forraje fresco o las condiciones de henificado y ensilado como factores de riesgo de estas parasitosis. Cabe señalar la ausencia de *F. hepatica* pues presenta un ciclo muy similar a los anteriores, lo que indicaría que las medidas de control frente a este trematodo, consistentes en el tratamiento rutinario y sistemático, están dando resultado, mientras que la falta o el escaso uso de formulaciones eficaces frente a los paranfistómidos hacen que las prevalencias de estos trematodos estén aumentando progresivamente.

Otro aspecto llamativo es la baja prevalencia de las infecciones por coccidios, teniendo en cuenta que el manejo intensivo supone un factor de riesgo para estas parasitosis. Es posible que las bajas cifras encontradas en este estudio se deban a que los muestreos solo incluyeron animales adultos; siendo los jóvenes los que presentan mayores cargas parasitarias.

En relación a los nematodos gastrointestinales, prácticamente el 100% de los rumiantes en pastoreo se infectan a lo largo de su vida; este porcentaje se verá reducido en los animales que tienen restringido su acceso al pasto, tal y como sucede en nuestro estudio.

En cuanto a la influencia del nivel de bienestar de las explotaciones y la prevalencia por distintos parásitos digestivos se comprobó que únicamente el estado de mantenimiento de la cama influyó de manera significativa en la prevalencia por coccidios ($?^2$= 3,704; p=0,05). Estos resultados resultan lógicos si tenemos en cuenta que la presencia de camas húmedas y sucias favorece la esporulación y supervivencia de los ooquistes de coccidios.

Estos resultados permiten concluir que en zonas endémicas, como Galicia, aunque los animales no salgan nunca al pasto, pueden verse expuestos a parásitos típicos de animales en pastoreo, como los paranfistómidos, por lo que es necesario realizar controles periódicos y medidas de prevención que incluyan buenas prácticas de henificado y ensilado. Por otra parte, el mantenimiento de la cama en granjas en estabulación permanente resulta un factor decisivo en la prevalencia por coccidios.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias a una Ayuda para la Consolidación y Estructuración de unidades de investigación competitivas-Redes (2017-PG117; Xunta de Galicia)

REFERENCIAS

Andrews, S.J. (1999). The life cycle of *Fasciola hepatica*. In: Dalton. J.P. (Ed). Fasciolosis. CAB International, Wallingford, UK pp16-20.

Trillo, Y., Quintela, L.A., Barrio, M., Becerra, J., Vigo, M., Peña, A., Herradón, P. (2017). Description of measurable parameters related to animal welfare in freestall and tiestall farms in northwestern Spain. *Arch. Zootec*., 66 (254): 203-213.

VALORACIÓN DEL APORTE SUPLEMENTARIO DE VITAMINA D COMO MÉTODO COMPLEMENTARIO PARA EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS EN GANADO BOVINO

Benítez-Medina JM, Martínez R, Galapero J, Gómez L, Jiménez N, García A, López F, Rodríguez C, Hermoso de Mendoza J

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa crónica que causa una gran preocupación sanitaria y económica. Estudios previos realizados en la Universidad de Extremadura demuestran que la suplementación con vitamina D en ungulados silvestres aumenta los niveles plasmáticos de esta, lo cual se correlaciona con patrones lesionales localizados, indicando un mejor control de la TB. El objetivo del presente trabajo consiste en la valoración del aporte suplementario de vitamina D a un rebaño experimental de ganado bovino para determinar su potencial como método complementario para el control de la TB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se seleccionó una finca experimental perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), que cuenta con un rebaño de unos 120 bovinos adultos. En marzo de 2017 se establecieron 3 lotes (de 37-38 vacas adultas y un semental):

Lote1: régimen alimenticio tradicional basado en aprovechamiento del pasto y suplementación de paja y pienso en época de carestía.

Lote 2: además de la alimentación tradicional se aporta (150 gr/animal/día) un complemento vitamínico-mineral (TEGASA).

Lote 3: además de la alimentación tradicional se suministra (1000 kg/semana) una suplementación basada en ensilado de uva.

Recogida de muestras

En abril, junio y septiembre de 2017, se recogieron muestras de sangre de un número representativo de animales para la determinación de niveles de vitamina D. Por otro lado, se procedió a la inspección de los animales sacrificados por ser reaccionantes positivos a la prueba oficial del saneamiento ganadero y se tomaron muestras para su posterior diagnóstico microbiológico e histopatológico.

Determinación cuantitativa de vitamina D en suero de bovino

Se utilizó el ensayo de inmuno-fluorescencia "ichroma™ Vitamin D" (BODITECH. BioSystems), conforme a las indicaciones del fabricante.

Estudio microbiológico

Las muestras se procesaron de acuerdo con los métodos de referencia, y se cultivaron empleando un sistema automatizado para la detección de micobacterias en medios líquidos

«BD BACTEC™MGIT™960» (BD).

Estudio histopatológico

Se empleó la técnica convencional de tinción de Hematoxilina-Eosina. Las preparaciones se examinaron al microscopio y se catalogaron según la clasificación realizada por Wangoo *et al.* (2005).

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Se consideró significativo todo valor de $p < 0.05$. Los datos se procesaron con el *software* R versión 2.15.

RESULTADOS

En total se realizó la determinación cuantitativa de vitamina D en 130 muestras de suero bovino. El análisis estadístico demuestra que la concentración de vitamina D fue significativamente superior en el grupo que se suplementa con el complemento vitamínico- mineral (lote 2) respecto a los otros dos grupos. En cuanto a la evolución de la concentración de vitamina D en suero, el lote 2 es el único en el que esta concentración aumenta significativamente de abril a junio, con una ligera subida de junio a septiembre.

Tras la inspección en matadero de los 10 bovinos positivos a las pruebas diagnósticas, no se observaron lesiones macroscópicas compatibles con TB. No se obtuvo ningún resultado positivo en el cultivo microbiológico. En el examen histológico se detectó alguna lesión compatible con TB, en 7 de los 10 animales analizados.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados demuestran que la suplementación continuada en bovinos durante un mínimo de 12 semanas con complementos vitamínico-minerales enriquecidos en vitamina D aumenta los niveles plasmáticos de la misma de forma significativa respecto del grupo control y el grupo con alimentación mejorada con ensilado. De igual modo, se ha observado una correspondencia entre el grupo suplementado con vitamina D y los animales reaccionantes a las pruebas oficiales de saneamiento. Una mejor respuesta inmune tras una suplementación adecuada puede explicar la detección inicial de animales positivos por la prueba intradérmica, al estar inmunológicamente más reactivos. En nuestro caso no se han observado lesiones macroscópicas compatibles con la enfermedad ni estadios avanzados en el estudio histológico, sino que presentaron estructuras características de una fase inicial de la infección, las cuales pueden ser compatibles con un animal reaccionante a la prueba de la tuberculina. Esto puede ser debido a la alta presión de saneamiento a la que está sometido el rebaño de la finca de estudio. Esta situación impediría una evolución rápida de la infección y por tanto la ausencia de lesiones típicas de la enfermedad tuberculosa es algo que entraría dentro de la normalidad. En conclusión, nuestras observaciones preliminares sugieren que la suplementación con vitamina D podría servir como una medida complementaria para controlar la TB en ganado bovino.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias al convenio (Referencia: 124/16; Nº de expediente: 1653999FR020) financiado por la Consejería de Medio Ambiente y Rural, Políticas Agrarias y Territorio de la Junta de Extremadura y el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Wangoo, A. *et al.* (2005). Advanced Granulomatous Lesions in *Mycobacterium bovis*-infected Cattle are Associated with Increased Expression of Type I Procollagen, Gammadelta (WC1+) T Cells and CD 68+ Cells. *Journal of Comparative Pathology*. 133 (4), 223-234.

EFICACIA EN EL BLOQUEO DE LA CIRCULACIÓN VÍRICA DE IBR EN UNA GRANJA COMERCIAL

Turón LL, Campillo JP

INTRODUCCIÓN:

Con la aparición de un brote puntual de problemas respiratorios de animales jóvenes en una explotación de vacas de leche se identifica un lote de animales seropositivos a IBR. El caso tuvo lugar en una explotación situada en la Zona Noroeste de España con más de quinientas vacas de leche en ordeño. Anteriormente a los problemas clínicos, la granja se encontraba inmersa en un protocolo de vacunación en la recría, que consistía en vacunar a los animales desde los tres meses de edad frente a BRSV + *Histophilus Somni* y a las novillas antes de la 1ª inseminación frente a IBR con vacuna marcada y BVD, PI3 y BRSV con una vacuna trivalente. Los animales adultos seguían protocolos similares a las novillas, siendo monitorizado el estado de prevalencia de IBR con muestras en tanque de leche cada 4 meses (MARKERcheck®, HIPRA). Los resultados a dicha monitorización reflejaban negatividad a anticuerpos gE a IBR en la granja.

DESCRIPCIÓN DEL CASO:

A principios de 2016, por error, 2 lotes de tres meses de edad con aproximadamente 30 animales cada uno quedaron sin vacunar frente a BRSV + *Histophilus Somni*, apareciendo enfermedad respiratoria y algunas terneras muertas en ambos lotes.

Por consecuencia de esta incidencia, y bajo la sospecha de un brote vírico de BRSV, el veterinario de la explotación, con el objetivo de clarificar y asegurar la causa de dichos problemas respiratorios, decidió recoger diferentes tipos de muestras en los animales enfermos: hisopos nasales para la identificación de antígeno mediante una prueba diagnóstica de PCR (BOVIRE-SPcheck®, HIPRA) y muestras de serología para la detección de presencia de anticuerpos mediante test ELISA ante BVD p80, IBR gE, PI·3 y BRSV.

A las 24 horas, las muestras recogidas demostraron positividad a BRSV, que junto con las necropsias de pulmón realizadas, afianzaron la teoría de que el brote de enfermedad estaba causado por dicho virus. Ante tal situación se procedió a una vacunación de urgencia parando el brote al cabo de 48 horas. Sin embargo, las muestras también reflejaron la aparición del cincuenta por ciento de los animales analizados positivos a anticuerpos gE tras un test ELISA a IBR, sorprendiendo porque hasta el momento la granja era negativa a IBR. El hecho que estos animales no hayan demostrado enfermedad a IBR puede estar causado por varias teorías: desde que la cepa no fuera muy virulenta; hasta que los animales, al haber sido encalostrados de madres vacunadas a IBR con vacuna marcada, no presentaran enfermedad proporcionando una buena protección inmunológica. A día de hoy no se conoce la causa de la entrada del virus en la explotación.

MEDIDAS EMPLEADAS:

La granja continuó con el programa de vacunación frente a BRSV + *Histophilus Somni* a partir de animales con 3 meses de edad.

Como consecuencia a los resultados de seropositividad a IBR en animales jóvenes, el veterinario y el propietario decidieron comenzar un protocolo de vacunación contra IBR en edades más tempranas, vacunando frente a IBR a los animales a partir de tres meses con una vacuna viva marcada según el protocolo establecido en su SPC (HIPRABOVIS IBR MARKER LIVE®, HIPRA). El objetivo era bloquear de una manera eficaz la circulación de virus en la explotación.

SEGUIMIENTO DE CASO:

Para valorar la eficacia del protocolo de vacunación y de la vacuna contra el IBR, el veterinario tomó muestras de suero sanguíneo en diferentes grupos de animales en el mes de Noviembre de 2017 (RIDEcheck®).

El resultado obtenido de las sesenta y dos muestras de suero sanguíneo analizadas refleja la prevalencia de IBR en los grupos de animales, totalizando en un once por ciento. Es muy significativo que el cuarenta y un por ciento de los animales de primera lactación son seropositivos a IBR, mientras que los animales con más lactaciones no han llegado a infectarse reflejando un cero por ciento, y los animales menores de la primera lactación solo un 3% de IBR positivo.

CONCLUSIONES:

En primer lugar, el panel de diagnósticos ofrecidos por HIPRA ha permitido demostrar la circulación de dos virus: BRSV y IBR, en la explotación e identificar el grupo de animales positivos.

En segundo lugar, teniendo en cuenta el objetivo de la vacunación, reducir la circulación del virus. Queda demostrada en esta granja la eficacia del protocolo y de la vacunación con vacuna viva marcada (HIPRABOVIS IBR MARKER LIVE®, HIPRA) habiendo mantenido el mismo sistema de manejo por lotes anterior a la infección de IBR de la explotación.

PRESENCIA DE *MYCOPLASMA BOVIS* EN BOVINO DE CEBO Y LECHERO EN EXPLOTACIONES ESPAÑOLAS

*García-Galán A, Gómez-Martín A, García A, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, Alcázar J, Mas A, De la Fe C**

INTRODUCCIÓN

Mycoplasma bovis (MB) es un agente infeccioso que afecta al ganado bovino y se ha asociado principalmente con mastitis, otitis y artritis en bovinos (Bürki *et al*., 2015), además de estar considerado uno los principales agentes involucrados en el Síndrome Respiratorio Bovino (SRB) (Arcangioli *et al*., 2008). A pesar de ocasionar graves pérdidas económicas en el sector bovino europeo (Nicholas y Ayling, 2003), destaca la ausencia de información epidemiológica en referencia a la presencia de dicho agente en las explotaciones lecheras y cebaderos de nuestro país. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de MB en algunas explotaciones afectadas con problemas de mastitis crónicas compatibles con la presencia de este microorganismo o bien animales sitos en diferentes cebaderos de la geografía española.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo, se analizaron un total de 345 muestras recogidas en el último año y medio en explotaciones bovinas. Se procesaron 274 hisopos nasales de terneros sitos en 12 cebaderos españoles y 71 muestras de leche (leche individual y tanque) de 9 explotaciones con problemas de mastitis compatible con la presencia de micoplasmas. Todas las muestras se inocularon en medio de cultivo SP4 y se incubaron a 37ºC en un 5% de CO2. En las muestras en las que se determinó la presencia de micoplasmas, se procedió a la extracción de ADN para proceder a la identificación de la presencia de MB por PCR (Foddai *et al*., 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 resume los resultados obtenidos. En 134 (39%) de las 345 muestras analizadas, se determinó la presencia de micoplasmas. De los aislamientos de *Mycoplasma*, 104 (30,1%) se identificaron como MB, mientras que la presencia de otra especie de este género se determinó en 30 muestras (8,9%).

En relación con los hisopos, un total de 80 resultaron positivos a la presencia de MB (29,2%) mientras que en 23 se determinó la presencia de otra especie de micoplasma en el aparato respiratorio (8,4%). Un total de 24 muestras de leche presentaron MB (33,8%), mientras que en 7 se determinó la presencia de otro micoplasma. Si bien no se ha realizado ningún estudio de prevalencia, los datos obtenidos sugieren la importancia de este microorganismo en el contexto del bovino de nuestro país, en consonancia con las prevalencias ya determinadas, por ejemplo, en terneros de cebo de países como Francia (67-100%) en muestras de fluido bronco alveolar procedentes de 8 cebaderos (Arcangioli, 2008) o la presencia de MB en leche individual de animales procedentes de una granja infectada (17.2%) (Timonen, 2017).Los datos también evidencian que es necesario evaluar la presencia e importancia epidemiológica de otras especies de *Mycoplasma spp.* tanto asociadas al SRB como a las mastitis. La presencia de especies como *M. dispar* o *M. bovirhinis*, implicadas en casos neumonía y mamitis clínica (Ter Laak *et al*., 1992; Gioia *et al*., 2016), debe por tanto ser estudiada en el contexto español.

Tabla 1. Presencia de *Mycoplasma bovis y Mycoplasma* spp. en hisopos nasales y muestras de leche en el presente estudio

Tipo de muestra	N total	*Mycoplasma bovis*	*Mycoplasma spp.*
Hisopo nasal	274	29,19% (n= 80)	8,39% (n= 23)
Leche	71	33,80% (n= 24)	9,85% (n= 7)

REFERENCIAS

Arcangioli *et al*., 2008. The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots.

Bürki *et al*., 2015. Virulence, persistence and dissemination of *Mycoplasma bovis*. Vet Microbiol, 179: 15-22

Foddai *et al*., 2005. Rapid differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* based on a multiplex-PCR and a PCR-RFLP. Mol Cell Probes, 19: 207–212

Gioia *et al*., 2016. Validation of a mycoplasma molecular diagnostic test and distribution of mycoplasma species in bovine milk among New York State dairy farms. Journal of diary Science, 99: 4668-4677

Nicholas, RA. y Ayling RD., 2003. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. Res Vet Sci, 74:105-112.

Ter Laak *et al*., 1992. The nasal Mycoplasma flora of healthy calves and cows. J. Veter. Med., Series B 39: 610–616.

Timonen Anri *et al*., 2017. Within-herd prevalence of intramammary infection caused by *Mycoplasma bovis* and associations between cow udder health, milk yield, and composition. Journal of diary Science, 100: 6554-6561

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MUESTRAS PARA DETECTAR LOS PRINCIPALES PATÓGENOS RESPIRATORIOS EN BOVINO

Arnal JL, Benito A, Bello A, Da Silva C, Fernández A, Sanz C, Alzuguren O, Serrano JD, Barrios J

INTRODUCCIÓN

El **Complejo Respiratorio Bovino** (CRB) es una enfermedad multifactorial con un importante componente infeccioso donde las condiciones ambientales y de bienestar de los animales son relevantes. Su impacto económico negativo es potente y afecta sobre todo a sistemas intensivos de producción en todo el mundo. Su etiología infecciosa comprende una variedad de virus y bacterias. Los agentes víricos descritos son el virus de la Rinotraquetitis Infecciosa Bovina (BHV-1), el virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV), Parainfluenza 3 (PI3V), Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV) y algunos Coronavirus. Habitualmente el papel de estos virus es reducir la eficacia del sistema inmune innato del animal; disminuyen el movimiento ciliar del epitelio respiratorio e impiden la eliminación de las bacterias que forman parte de la flora normal de las vías respiratorias altas. Esta situación permite la progresión de las mismas hacia los pulmones estableciendo una infección con una importante afección pulmonar. Las principales bacterias implicadas en el CRB son

Mannheimia haemolytica, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis*.

La detección de todos estos microbios es fundamental para la resolución diagnóstica en cada uno de los casos. Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de detección mediante técnica qPCR de los principales agentes implicados en CRB a partir de dos tipos de muestras: lavado broncoalveolar (BAL) e hisopado protegido retronasal (HPR).

MATERIALES Y MÉTODOS

Doce explotaciones de terneros menores de 1 año con historial de problemas respiratorios fueron muestreadas para este estudio. En cada una de las granjas fueron seleccionados 5 animales a los que se tomó ambos tipos de muestra: lavado e hisopado. Para realizar el lavado se introdujeron unos 20 mL de suero fisiológico estéril a través de una sonda traqueobronquial. A continuación se recuperaban entre 1 a 4 mL que conformaban la muestra de lavado. Para tomar los hisopados se introdujeron a través de los ollares unas torundas protegidas que sólo salían de su funda una vez llegaban a la región nasal profunda y evitaban de este modo contaminaciones con flora nasal de la zona más distal.

Las muestras de los 5 animales de cada explotación se analizaron conformando 1 un pool por cada respectivo tipo de muestreo. Los agentes patógenos investigados fueron BVDV, BHV-1, BRSV, PI3V, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*. Tras una extracción de ácidos nucleicos totales (RNA+DNA) los parámetros estudiados se investigaron mediante sus respectivos ensayos qPCR que habían sido previamente desarrollados y validados internamente en los laboratorios Exopol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los agentes estudiados salvo BRSV fueron detectados en algún pool. Consideramos un pool de animales como positivo a un determinado parámetro cuando ha resultado positivo en alguno de los dos tipos de muestras o en ambos. En los resultados mostrados en la tabla se detallan los pooles de animales positivos y número de pooles positivos a cada tipo de muestra.

Agente	Pooles de animales POS	Pooles de hisopos POS	Pooles de lavados POS
BVDV	3	2	2
BHV-1	1	1	0
BRSV	0	0	0
PI3V	2	1	1
H. somni	3	2	2
M. bovis	9	9	9
M. haemolytica	6	5	4
P. multocida	11	11	11

Los datos obtenidos sugieren que no hay diferencia cualitativa en la detección de los patógenos investigados entre ambos tipos de forma de muestreo. En la detección de los agentes víricos BVDV y PI3V no se encontraron diferencias entre hisopados y lavados, ambos detectaron 2 pooles positivos. Sin embargo, ninguno de los dos métodos consiguió una detección plena. Tanto hisopados como lavados obtuvieron resultados negativos en pooles de animales considerados como positivos. Merece la pena destacar que sí se encontró un pool de hisopados con resultado positivo a BHV-1 (Cq = 29,31). Dicho pool de animales no fue detectado en sus respectivas muestras de lavados, hecho que puede penalizar la elección de este tipo de muestreo. La investigación de los agentes bacterianos fue comparable en ambos tipos de muestras y no se encontraron diferencias notables entre ellas.

Según la opinión de los autores, a la hora de elegir un método de muestreo no sólo deberían tenerse en cuenta las tasas de detección de los diferentes patógenos. La representatividad de los resultados obtenidos en la muestra tomada en relación al órgano diana de la enfermedad puede ser un factor relevante. De esta manera los lavados pueden dar una mejor idea de la relevancia de las bacterias detectadas al ser muestreados directamente a nivel pulmonar. En relación a los agentes víricos, BVDV y PI3V, ningún tipo de muestra ha mostrado una detección plena, por lo que resulta complicado decidir qué tipo de muestra es más eficaz.

CONCLUSIÓN

Hisopados protegidos retronasales y lavados bronquialveolares son métodos cualitativamente comparables para la detección de los principales agentes etiológicos infecciosos del Complejo Respiratorio Bovino en animales vivos.

PRESENCIA DE *MYCOPLASMA BOVIS* EN TERNEROS CEBADOS SIN RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

García-Galán A, Ortega J, Rosell J, Sylvie Danielle Vautier L, Alomar J, Quereda JJ, Tatay-Dualde J, Prats van der Ham M, De la Fe C, Gómez-Martín A

INTRODUCCIÓN

Existe una creciente preocupación europea por las posibles repercusiones de las bajas susceptibilidades a antibióticos observadas en cepas de *Mycoplasma bovis* (Mb) aisladas en países como Francia (Gautier-Bouchardon *et al.*, 2014). En España, las posibles pérdidas económicas de esta infección y de otras especies de micoplasmas podrían estar aún infravaloradas en el Síndrome Respiratorio Bovino (SRB). Este trabajo se enmarca en una línea de trabajo orientada a esclarecer su impacto sanitario y económico en los cebaderos españoles.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio microbiológico e histopatológico de diecisiete terneros de 5 cebaderos del sureste español, con un cuadro respiratorio crónico y ausencia de respuesta a la antibioterapia. Durante la necropsia reglada, se tomaron muestras de lóbulo pulmonar craneal derecho y adicionalmente, de lesiones macroscópicas pulmonares (en caso de haberlas) para su posterior estudio histopatológico (Tabla 1). Para el estudio microbiológico, se procedió a la toma de muestras de dichos tejidos, de conducto auditivo externo (CAE) y cavidad nasal empleando hisopos (Deltalab®) que fueron preservados a 4ºC. Todas las muestras fueron inoculadas en medio SP4 y se procedió a la identificación molecular de la presencia de Mb en los aislamientos (Foddai *et al.*, 2005).

RESULTADOS

La tabla 1 describe las muestras que resultaron positivas a *Mycoplasma* spp., las identificaciones de Mb, así como las lesiones observadas en terneros infectados. En trece terneros se constató la presencia de micoplasmas (76,47%), confirmándose la presencia de Mb en diez de los mismos (58,82% de los muestreados). Aunque Mb fue identificado en todos los tipos de muestras, las muestras nasales (n=8) y de pulmón (n=6) fueron las muestras donde más frecuentemente se identificó seguido de las muestras de absceso pulmonar, conjuntiva y CAE (n=4 en cada una). En 5 animales, Mb fue identificado simultáneamente en fosa nasal y a nivel pulmonar (Tabla 1: animales 3, 4, 5, 11 y 13).

DISCUSIÓN

Las lesiones respiratorias observadas (Tabla 1), son coherentes con la presencia de *Mycoplasma* spp. o *Pasteurella multocida.* Sin descartar la presencia de algún falso negativo a Mb en nuestro trabajo, la posible infección de *Pasteurella multocida*, cuya identificación no fue objeto del presente estudio, podría explicar la observación de este tipo de lesiones en las que no se identificó Mb. Los animales infectados con Mb suelen presenter bronconeumonía supurativa crónica, siendo común observar infecciones mixtas con otras bacterias (Maunsell y Donovall., 2009). Los resultados ponen de manifiesto que Mb está implicado en cuadros crónicos de SRB acaecidos en cebaderos del sureste español, especialmente en terneros que no responden a la antibioterapia. Ello podría estar relacionado con las bajas susceptibilidades a antibióticos observadas en otros países (Gautier-Bouchardon *et al.*, 2014). Además, pudo constatarse la presencia de otras especies de micoplasmas que podrían tratarse de especies patógenas, apatógenas u oportunistas (Chazel *et al.*, 2010).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha desarrollado gracias al Proyecto AGL2016-76568-R del Ministerio de Economía y Competitividad, cofinanciado por fondos FEDER.

REFERENCIAS

Chazel M. *et al.*, 2010. Mycoplasmoses of ruminants in France: recent data from the national surveillance network. BMC Veterinary Research. 2010: 6:32

Gautier-Bouchardon AV. *et al.*, 2014. Overall decrease in the susceptibility of *Mycoplasma bovis* to antimicrobials over the past 30 years in France. PLoS One 9. doi: 10.1371/journal.pone.0087672.

Foddai, A. *et al.*, 2005. Rapid differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and

Mycoplasma bovis based on a multiplex-PCR and a PCR-RFLP. Mol Cell Probes, 19: 207–212

Maunsell F. y Donovan, G. 2009. *Mycoplasma bovis* Infections in Young Calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 25: 139–177

Tabla 1: Aislamientos de *Mycoplasma bovis* y lesiones destacadas en los terneros estudiados.

Ternero	Muestra	Aislamiento	PCR M.bovis	Lesiones OBSERVADAS
Nº1	N	Mycoplasmaspp.	Negativo	
	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa.
Nº2	N	Mycoplasma spp.	Negativo	
	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Edema alveolar.
Nº3	C	Negativo	Positivo	
	O	Negativo	Positivo	
	N	Mb	Positivo	
	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa. Pleuritis fibrosa. Edema alveolar.
	AP	Mb	Positivo	
Nº4	C	Negativo	Positivo	
	N	Mb	Positivo	
	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía intersticial. Edema alveolar.
	AP	Mb	Positivo	
Nº5	N	Mb	Positivo	
	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa. Pleuritis fibrosa. Edema alveolar.
	AP	Mb	Positivo	
	C	Mycoplasma spp.	Negativo	
Nº6	N	Mb	Positivo	
	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Pleuritis fibrosa. Edema alveolar. Enfisema.
	O	Mycoplasma spp.	Negativo	
Nº7	N	Mb	Positivo	
	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa.
	C	Mb	Positivo	
Nº8	O	Mb	Positivo	
	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía intersticial. Edema alveolar.

Nº9	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía gangrenosa. Neumonía intersticial.
	O	Mycoplasma spp.	Negativo	
	C	Mycoplasma spp.	Negativo	
	N	Mycoplasma spp.	Negativo.	
Nº10	O	Mycoplasma spp.	Negativo.	Bronconeumonía supurativa.
Nº11	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía intersticial.
	O	Mb	Positivo	
	N	Mb	Positivo	
	AP	Mb	Positivo	
Nº12	N	Mb	Positivo	
	O	Mycoplasma spp.	Negativo	
	N	Mycoplasma spp.	Negativo	
	P	Mycoplasma spp.	Negativo	Bronconeumonía supurativa.
Nº13	C	Mb	Positivo	
	O	Mb	Positivo	
	N	Mb	Positivo	
	P	Mb	Positivo	Bronconeumonía supurativa.
Nº14	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Edema alveolar.
Nº15	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía intersticial.
Nº16	P	Negativo	Negativo	Neumonía intersticial. Pleuritis fibrosa.
Nº17	P	Negativo	Negativo	Bronconeumonía supurativa. Neumonía intersticial.

AP: absceso pulmonar; P: pulmón; OD: oído derecho; OI oído izquierdo; Mb: Mycoplasma bovis; M. spp: Mycoplasma

---

MONITORIZACIÓN DE LA SALUD Y CRECIMIENTO DE LAS TERNERAS PARA EVALUAR UN PROGRAMA VACUNAL FRENTE A DIARREA NEONATAL Y SRB

Carbonell C, Pilar C, Laria R, Ibáñez A, Elvira L

INTRODUCCIÓN

A día de hoy, en muchas explotaciones lecheras se considera un éxito que las terneras no enfermen gravemente durante sus primeros meses de vida, sin comprender que para conseguir animales adultos que puedan desarrollar todo su potencial productivo es fundamental que las terneras crezcan sanas en las primeras fases de vida.

Numerosos estudios demuestran como el fallo de transferencia calostral (FPT) presenta efectos tanto a corto plazo (incremento de la morbilidad/mortalidad por diarrea neonatal y SRB), como a largo plazo con repercusiones sobre toda la vida productiva del animal. Asimismo, diferentes trabajos han probado que las terneras que enferman de diarrea neonatal incrementan el riesgo de presentar neumonía. Por otra parte, está demostrada la reducción de incidencia de la diarrea neonatal en las terneras, al aplicar un programa vacunal frente a *Rotavirus, Coronavirus y E. coli* a las vacas, en el último tercio de gestación. Motivo por el que nos planteamos la posibilidad de la acción sinérgica de ambas vacunas de cara a reducir la morbilidad de ambas enfermedades.

OBJETIVOS

Evaluar el efecto de complementar la vacunación de los terneros frente a *VRS, PI3 y Mannhemia haemolytica* (Bovilis Bovipast RSP®), con la vacunación de las madres en el secado frente a *Rotavirus, Coronavirus y E. coli* con Rotavec Corona®, en la salud y el crecimiento de las terneras desde el nacimiento hasta el destete.

MATERIAL Y MÉTODOS

La explotación del estudio vacunaba para prevenir la neumonía en las terneras con Bovilis Bovipast RSP® pero presentaba problemas de neumonía temprana y diarrea neonatal durante las primeras dos semanas de vida.

Para el estudio ciego y aleatorizado, se seleccionaron 24 animales gestantes entre tres y un mes antes del parto, que fueron asignados a dos grupos de estudio: vacunados o no con Rotavec Corona®.

Tras el parto, se administraron los calostros frescos a las terneras, identificando la correspondencia calostro-ternera, desconociendo el operario a qué grupo pertenecía cada animal. Se recogieron muestras para estimar de manera indirecta la calidad de los calostros con el refractómetro de Brix digital (ATAGO). Además, se tomaron muestras de suero de las terneras, entre 1 y 7 días de vida, para evaluar el FTP mediante refractometría. Entre 15 y 35 días de vida, todos los terneros recibieron la primera dosis de Bovilis Bovipast RSP®, administrando la segunda dosis 28 días después.

Se realizó una visita cada dos semanas, revisando el estado de salud de las terneras mediante el score de Wisconsin, tanto para diarrea neonatal como para SRB. De manera complementaria, se evaluó la presencia de lesión pulmonar mediante ecografía siguiendo la clasificación de Ollivett. Además, se estimó el peso de las terneras mediante la medición del perímetro torácico con la cinta de pesar de Pennsylvania (Corbur).

Para el diagnóstico de enfermedad, se tomaron en cuenta tanto los casos diagnosticados en granja entre las revisiones, como los indicadores durante las visitas: diarrea o alopecia en la parte trasera de la ternera y/o presencia de lesiones pulmonares ecográficas junto al score de McGuirk >5 para las neumonías.

RESULTADOS

De los 24 animales incluidos, 12 fueron asignados a cada grupo de estudio. Tuvimos que eliminar un caso del grupo control ya que la ternera al nacer presentaba paladar hendido. Se incluyeron tanto vacas como novillas siendo el número medio de partos de cada grupo de 2,8 y 2,3 en los grupos Rotavec y Control, respectivamente.

Un 33% de las terneras del grupo Rotavec padeció diarrea frente a un 90,9% en el grupo control. Se realizó el kit diferencial de Biox en tres terneros resultando dos terneros del grupo Rotavec positivos a criptosporidiosis y uno del grupo Control positivo a rotavirus. Además, las terneras del grupo Rotavec no padecieron neumonía durante el primer mes de vida, mientras que un 27,3% enfermaron en el grupo control. Hasta el destete, sólo una ternera del grupo Rotavec enfermó de neumonía (8,35%), mientras que un 63,6% enfermó en el grupo control.

El riesgo relativo de enfermar con un nivel de confianza del 95% para la diarrea, mostró que las terneras no vacunadas presentaban 2,72 veces mayor riesgo de enfermar. Aún en mayor medida, el riesgo de enfermar de neumonía antes del destete fue 7,63 veces mayor en las terneras del grupo control no vacunado que en las de las madres vacunadas con Rotavec.

Desafortunadamente, a pesar de haber realizado el encalostrado de forma ciega en las terneras del grupo control hubo un mayor porcentaje de fallo de encalostrado (50 vs 25%) lo que pudo haber afectado negativamente a la morbilidad de este grupo.

CONCLUSIONES

En conclusión, el uso conjunto de ambas vacunas (Rotavec Corona y Bovilis Bovipast RSP®) parece tener un uso sinérgico mejorando los indicadores de salud de las terneras, dando lugar a mejores resultados sanitarios al reducir la morbilidad tanto de la diarrea neonatal como de la neumonía.

BIBLIOGRAFÍA

H.J. Van der Fels-Klerx, S.W.Martin y R.B:M: huirne. 2002: Effects on productivity and risk factors of BRD in dairy heifers; a review for the Netherlands. Netherlands Journal of Agricultural Science 50 (2002) 27-45.

Hultgren J. Catarina, S. Maizon , D y Oltenacu, P. 2008 : Rearing conditions , morbidity and breeding performance in dairy heifers in southwest Sweden. Preventive Veterinary Medicine 87 , 244-260.

Furman-Fratczak, A .Rzasa y Stefaniak . 2011. The influence of colostral immunoglobulin concentration in heifer calves¨serum on their health and growth. Journal of Dairy Science 94.5536-5543

Meganck V, Hoflack G y Opsomer G, 2014. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. Acta Veterinaria Scandinavica 56: 75.

McGuirk SM, 2008. Disease management of dairy calves and heifers. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 24: 139-153.

Gooden S. (2008) Colostrum Management for Dairy Calves. Vet Clin Food Anim 24: 19–39.

Theresa L. Ollivett, Sébastien Buczinski, 2016. On-Farm Use of Ultrasonography for Bovine Respiratory Disease. Veterinary clinics of North America

Van Amburgh M.E., Soberon F., Lopez D.J., Karszes J. y Everett R.W. (2014) Early Life Nutrition and Management Impacts Long-Term Productivity of Calves. Proceedings 50th Florida Dairy Production Conference, Gainesville, 35-49.

Virtala,A-M.K, Y.T. Groh. Melchor ,1999. The effect of maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory disease in heifers during the first 3 months of life. Preventive Veterinary Medicine 4: 137-158.

MEDICINA - CIRUGÍA - PODOLOGÍA

CASO CLÍNICO: MEDULOBLASTOMA EN UN TERNERO DE RAZA RUBIA GALEGA

Rigueira L, Espino L, Barreiro D, López-Peña M, Prieto A, Méndez D, Fidalgo LE, Miranda M

CASO CLÍNICO:

Un ternero macho de raza Rubia Galega de 4 meses de edad acude a la consulta del HVU Rof Codina porque desde hace una semana es incapaz de incorporarse sin ayuda y se mantiene poco tiempo en estación.

Los propietarios refieren que el animal en los primeros días de vida era torpe, se movía con dificultad y se caía con frecuencia. El veterinario de la explotación lo trató con corticoides y vitaminas del grupo B y el ternero mejoró hasta la pasada semana.

A la exploración física nos encontramos un ternero con buena condición corporal, Tª, frecuencia cardíaca y respiratoria dentro de los valores normales. La cabeza ligeramente inclinada hacia la derecha. Sólo es capaz de levantarse con ayuda y permanece poco tiempo en estación.

En el examen neurológico el paciente mostraba un estado mental alerta, se mantenía en decúbito esternal y al ayudarle a incorporarse se evidenciaba una tetraparesia ambulatoria y ataxia asimétrica derecha. En la exploración de los pares craneales se observó una ausencia de reacción de amenaza y estrabismo ventrolateral posicional en el ojo derecho. Estos hallazgos eran indicativos de una lesión en el sistema vestibular central en el lado derecho.

Debido a la gravedad de los signos clínicos se optó por el sacrificio del animal.

Se realizó un estudio tomográfico de la cabeza en la que pudimos apreciar una masa ligeramente hiperdensa en precontraste, de gran tamaño (5x5x5 cm aprox), con bordes mal definidos en fosa posterior del encéfalo, con múltiples áreas de mineralización difusa y que comprime y desplaza los hemisferios cerebrales cranealmente, al cerebelo caudodorsalmente y al tronco del encéfalo ventralmente. No se observa hidrocefalia asociada (no se puede descartar ya que la imagen fue obtenida postmorten). El estudio tomográfico es compatible con una masa intraxial de grandes dimensiones: neoplasia o granuloma.

El posterior estudio histopatológico confirmó que se trataba de un meduloblastoma.

El meduloblastoma es un tumor maligno que afecta al cerebelo, es una neoplasia relativamente común en niños, pero que también puede afectar a animales aunque son pocos los casos referidos en animales de granja.

EFECTO DEL RECORTE FUNCIONAL DE LOS ANIMALES EN LACTACIÓN SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE

Molinero A, Trillo Y, Pineda M

El **objetivo** de este estudio fue encontrar la relación entre el recorte funcional de todos los animales en lactación y la producción de leche en tres ganaderías del norte de España.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos analizados corresponden a las producciones de los animales durante un mes antes y un mes después de realizar

recorte de pezuñas. Ganaderías situadas en el Norte de España, Asturias y País Vasco. En las tres ganaderías el recorte se realizaba en la misma jornada para todos los animales del rebaño:

Ganadería 1. Explotación con una media anual de 51 (50 -53) animales en lactación, con un sistema de ordeño de robot Lely de donde se obtuvieron los datos. Suelo de rejilla con gomas y cubículos de serrín con carbonato de calcio. En el período de estudio, la media de producción láctea por vaca/día era de 34 L (32.3 – 36.4 L). Media de días en leche de 192.5 (182 - 203 días). Recorte preventivo una vez al año.

Ganadería 2. Explotación con una media anual de 217 (206 -227) animales en lactación. Sistema de ordeño en sala de espina de pescado. Datos de producción obtenidos de UNIFORM-Repro. Suelo rayado y cubículos de arena. En el período estudiado, la media de producción láctea por vaca/día fue de 37.9 L (34.5 – 38.9 L). La media de los días en leche fue de 202 días (199 – 204 días). Recorte preventivo dos veces al año (sólo estudiada una).

Ganadería 3. Explotación con una media anual de 50 (48 -54) animales en lactación, con un sistema de ordeño de robot Lely de donde se obtuvieron los datos. Suelo de rejilla, cubículos de gomas con carbonato de calcio. La media de producción por vaca/día era de 35.3 l (32.1

-37.7 L). La media de días en leche en el periodo fue de 183.3 (173 – 193 días). Recorte preventivo una vez al año.

Descripción de la técnica del recorte

El recorte funcional consistió en restablecer las medidas y angulación de la pezuña adecuadas. Las directrices seguidas corresponden a una longitud de pared dorsal de 7.5 a 15 cm, un ángulo de 45 a 50º y una altura de talón de al menos 3.5 a 4 cm. En el caso de encontrarse alguna lesión en la pezuña se administró el tratamiento adecuado a cada patología.

En las explotaciones 1 y 3 se realizó el recorte funcional en el mes de enero, en la explotación 2 el recorte fue realizado en el mes de abril.

Descripción de la estadística aplicada

Se ha realizado un test t-Student para muestras relacionadas, comparando las diferencias de producción total (Kg, 305 d) durante un mes antes y después del recorte funcional. Diferencias significativas se han establecido con un nivel de confianza del 5% ($P<0.05$).

RESULTADOS

En la Ganadería 1 y 2 se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) en la producción total de leche, disminuyendo en la Ganadería 1 y aumentando en la Ganadería 2. Sin embargo, en la Ganadería 3 disminuyó la producción, pero no fue significativa. Las Gráficas 1, 2 y 3 representan la distribución de los Kg de leche totales durante los 29 días antes y después del recorte funcional.

Las gráficas (3, no disponibles en aplicación de subida de comunicaciones libres) muestran la distribución de los Kg le leche en la Ganadería 1, 2 y 3 antes y después del recorte funcional de extremidades (29 d). La producción total disminuyó significativamente en ganaderías 1 y 2 (1.821,1 Kg y 8.667 Kg después del recorte respectivamente). En la ganadería 3 la producción total disminuyó 732,6 Kg después del recorte.

DISCUSIÓN

Al contrario de lo que se pudiese inicialmente creer, un recorte funcional realizado correctamente y en el momento de producción adecuado, puede mejorar el bienestar de los animales como en el caso de la ganadería 2. Sin embargo, se precisan muchos factores favorables para que ello suceda, y consideraciones de manejo (higiene en instalaciones, camas cómodas y de calidad, uso de pediluvios, buen rallado de suelos y no abrasivos, manejo sin estrés, entre otros), debieran influir en dichas variaciones de producción. Se debe reconsiderar el posible beneficio de recortar a todas las vacas de la explotación siendo quizás recomendable recortar en el momento del secado y, en caso necesario, después del pico de lactación.

CONCLUSIÓN

A tenor de los resultados del estudio se debería reconsiderar si hay beneficio en realizar un recorte funcional a todos los animales en lactación independientemente del periodo de lactación en el que se encuentren. Se necesitan futuras investigaciones para determinar los momentos óptimos de recorte funcional en explotaciones pequeñas. Reconsiderando la necesidad de recortar a todas las vacas de la explotación en un momento determinado.

RESOLUCIÓN QUIRÚRGICA DE UNA FRACTURA DE FÉMUR DISTAL, EN UNA TERNERA, MEDIANTE LA TÉCNICA DEL POLICLAVO INTRAMEDULAR

Zurita M

Los problemas traumatológicos que afectan las extremidades de los bovinos, suelen presentarse de manera esporádica y ocurrir por caídas abruptas, atropellamientos, (Baxter y Wallace 1991) o por maniobras obstétricas relacionadas con la atención del parto (Nuss y col 2011). Siendo la tibia la estructura ósea más comprometida representando más del 50% de todas las fracturas que involucran los huesos largos del miembro pélviano y con una tasa de sobrevivencia superior a los equinos ($p <0,01$) (Crawford y Fretz 1985). Sin embargo, algunos animales con estado de salud comprometida deben ser eliminados del hato, debido a que representa un mal pronóstico tanto productivo como reproductivo (Gangl y col 2006), producto del estrés de dolor, lo que conlleva a una disminución de la producción láctea, distorsión de la ciclicidad, baja permanente de peso y en general se relacionan con parámetros productivos inferiores (Borrero 2007, Munzenmayer 1977), condiciona muchas veces la permanencia del animal en el hato, por lo que deben ser eliminados inclusive de manera prematura.

Asimismo, los costos que representa el tratamiento, ya sea mediante la aplicación de técnicas de reducción cerrada por compresión e inmovilización externa con yesos o combinaciones con férulas de coaptación de Thomas (Adams y Fessler 1996), y vendajes de Spica (Baird y Adams 2014), han dado resultados aceptables en bovinos jóvenes, mientras que en animales adultos la osteosíntesis mediante aparato de fijación esquelética externa(AFEE), es considerado un método ideal. Por lo tanto, es la técnica más utilizada en la reducción de fracturas en esta especie (Adams, 1985).

En la actualidad, en nuestro medio, la decisión de instaurar un tratamiento quirúrgico es probable teniendo en cuenta el valor productivo de bovinos Angus PC (Puros Controlados) y Hereford PR (Puros registrados), Holstein e inclusive en reproductores ovinos de pedigree, en los cuales, los resultados quirúrgicos obtenidos justifican ampliamente dicho tratamiento en condiciones rurales. Los costos de dichos tratamientos quirúrgicos son similares a otras latitudes (Adams y Fessler 1996, U$s 310-400 (dólares americanos). Los costos generados por la cirugía pueden ser recuperados a mediano (30 días) o largo

plazo (60 días) conservando la vida del animal, como ente productivo y reproductivo (Vitoria-Gasteiz 1999).

El presente trabajo muestra el tratamiento quirúrgico válido para una ternera Angus de 200 kg de peso corporal, que presenta una fractura distal de fémur miembro posterior derecho de origen traumático, en condiciones de campo

MATERIALES Y MÉTODOS

Implantes utilizados: clavos de Steinmann de 6mm y 8 mm de espesor y 50 cm de longitud. Metacrilato.

Protocolo anestésico:

Premedicación: Xylacina 0,1 mg Kgs

Anestesia Epidural anterior con bupivacaina-lidocaina, combinado con morfina, y mantenimiento con ketamina 3 mg/kg-midazolam 0,3 EV

Técnica quirúrgica:

En este caso se realizó un abordaje basado en el procedimiento de Brinker, que es el indicado para fracturas del cuerpo femoral proximal al área supracondílea

1° tiempo: Se realiza una incisión en piel a lo largo del borde craneolateral del cuerpo del fémur desde el nivel trocanterico mayor hasta el nivel de la patela. Tanto la grasa subcutánea como la fascia superficial se inciden directamente en el mismo sentido que la piel.

2° tiempo: Los márgenes de la piel se disecan y retraen, la capa superficial de la fascia lata se incide a lo largo del borde craneal del musculo bíceps femoral. Esta incisión se extiende a todo el largo de la incisión de la piel.

3°tiempo: La retracción caudal de musculo bíceps femoral revela el cuerpo del fémur. Es necesario incidir la pared aponeurótica fascial sobre el borde lateral del hueso con el fin de retraer de forma adecuada el musculo vasto lateral.

4° tiempo: Los músculos vasto lateral e intermedio sobre la superficie craneal del cuerpo se retraen por liberación de la fascia laxa entre el musculo y el hueso.

5° tiempo: Se ubica el lugar de la fractura (presencia de hematoma peri focal) y se colocan los clavos según técnica. Se elimina el exceso de clavo que emerge por la fosa trocanterica y se fijan entre sí con metacrilato.

6°tiempo: El cierre consiste en suturas de la fascia lata al borde craneal del bíceps en serie con material absorbible N° 2 (vicryl) y la fascia superficial en una segunda etapa. La piel se suturo con Nylon 0,50, con capitones.

Manejo post quirúrgico:

Dexametasona fosfato 0,5 mg /Kg/día por 48 Hs Tramadol 2 mg/Kg/día por 96 Hs

Penicilina/Estreptomicina 20.000 UI/Kg/día por 4 días

GESTIÓN

INFLUENCIA DEL RATIO ESPACIO COMEDERO/ANIMAL EN LOS ÍNDICES PRODUCTIVOS EN CEBADEROS DE TERNEROS PASTEROS CRUZADOS

Guarnido P, Ibáñez Y

INTRODUCCIÓN

En España existe numerosa variabilidad en cuanto a comederos en las explotaciones de bovino de cebo, algunos comederos son corridos y presentan gran disponibilidad para la alimentación, mientras que otros presentan mas restricciones. La enorme variabilidad de diseño de comederos genera dudas entre cuál podría ser más eficiente, ya que hasta ahora la razón de elegir un diseño u otro ha sido fundamentalmente la economía y comodidad del ganadero, resultando en algunas ocasiones ratios por boca y animal que tienen claras influencias negativas para la productividad del mismo al generar competencias y conductas alimentarias que desembocan tanto en descensos a nivel productivo (IC y GMD) como en incidencias en matadero provocadas por el aumento de casos de acidosis debidos a niveles de pH mas inestables generados por la competencia entre los mismos animales.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del espacio del comedero (en cuanto a longitud de centímetros/animal) en los índices productivos del ganado vacuno de carne desde un punto de vista práctico del técnico de explotación.

Tabla 1: Comparativa de medias de datos productivos recogidos en las diferentes explotaciones:

	KILOS ENTRADA	DE	KILOS SALIDA	DE	KILOS REPUESTOS	DE	DIAS CEBO	DE	CONSUMO	DE	N
LOTE INDUSTRIAL	285,29	1,34	507,93	2,34	173,45	1,45	190,61	3,56	1158,79	1,64	1991
LOTE DOMESTICO	245,62	3,48	505,78	6,78	201,56	5,52	189,44	2,98	1310,12	5,42	114

Los animales llegan al cebadero industrial con más kilos de media (285 vs 245) ; los animales en los mismos días de cebo (190) y con la misma fórmula de pienso consiguen un peso final similar (508,505) suponiendo una mayor cantidad de kilos repuestos del cebadero domestico frente al comunitario (173 vs 201).

Tabla 2: Comparativa de medias de rendimientos en las diferentes explotaciones:

	ÍNDICE CONVERSION	DE	GANANCIA MEDIA	DE	% RENDIMIENTO CANAL	DE	% DECOMISOS HIGADO	DE	N
LOTE INDUSTRIAL	6,71	1,12	1,15	0,26	55,21	1,02	6,7	1,3	1991
LOTE DOMESTICO	6,55	1,24	1,37	2,07	55,96	2,13 6	1,55	114	

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio se realizaron medidas comparativas entre dos cebaderos diferentes, el primero de ellos un cebadero industrial comunitario de 1050 plazas frente a un cebadero doméstico de 60 plazas. En ambos casos, los animales son todos cruzados de reproductoras de la misma raza autóctona con sementales de razas integradas en España y conformando lotes de 24 animales. El sistema de alimentación en ambos casos era la misma fórmula de pienso isoenergético de la misma casa comercial en el sistema de producción pienso-paja convencional. Un cebadero utilizó tolva de 3m de largo mientras que otro utilizó comedero corrido de 6m con más disponibilidad de alimento, medidos con un sistema métrico enrollable tradicional (Fitmin 15 m), que también se utilizo para medir los bebederos y la pajera.

Las medidas de los pesos de los animales fueron tomadas con la báscula (Iconix Fx1) y las medidas los kg de pienso consumidos fueron llevadas a cabo mediante el sistema de pesado (PRL 20T), se recogieron los datos productivos del pasado año 2017 y se añadieron a modo de correlación rendimientos productivos en matadero. Los datos se introdujeron en una matriz en la que se utilizó el programa estadístico IBM-SPSS (v23) para el tratamiento de las medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el presente estudio se utilizo la longitud del ratio de centímetros de comedero por animal resultando en el caso del cebadero industrial 12,5 cm/animal y 25cm/animal en el doméstico.

Es bastante significativo el hecho de que se haya aumentado el consumo de pienso (151 kg más) en el cebadero doméstico generando una mayor ganancia media diaria (1,37 vs 1,16) y con un índice de conversión mas bajo (6,55 vs 6,7) lo cual puede ser debido a una menor competencia que redunda en un incremento de consumo en los animales (González *et al.,* 2010). Los animales alteran su conducta alimentaria llegando a triplicar la velocidad de ingestión antes una situación de competencia, de manera que la velocidad de ingestión está inversamente relacionada con la cantidad de saliva segregada en la ingestión, modificando así su efecto tamponante (Harb y col., 1985).

Todos ellos rindieron un porcentaje similar a la canal (55%), y dieron una puntuación SEUROP de R3 en el matadero, también es importante indicar el porcentaje de abscesos hepáticos en ambos cebaderos (6% vs 6,7%) pudiendo explicar el echo de que la competencia en el comedero genera que algunos animales que esperan para comer tengan más fluctuaciones de pH ruminal generando mas prevalencia de episodios de acidosis (González *et al.,* 2010).

CONCLUSIONES

Aumentar el ratio de longitud de centímetros de comedero por animal en el diseño de instalaciones es importante a la hora de valorar rendimientos productivos y sus consecuentes resultados económicos, resultando positivos los valores más elevados de este ratio.

MODELIZACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ESTRÉS POR CALOR EN DIFERENTES ZONAS DE ESPAÑA Y EL IMPACTO TÉCNICO Y ECONÓMICO DE LAS MEDIDAS DE CONTROL

Espinoza O, Calsamiglia S

INTRODUCCIÓN

El estrés calórico (**EC**) en las vacas lecheras es resultado de la combinación de factores ambientales que provocan la disminución de la ingestión, la producción de leche y la fertilidad (Kadzere *et al.*, 2002). Las consecuencias económicas del EC dependen de muchos factores (región geográfica, manejo, genética, precio de leche, instalaciones…) (Dhuyvetter *et al.*, 2002). La principal estrategia para reducir el impacto del EC se basa en sistemas de enfriamiento evaporativo (**SEE**; aspersores y ventiladores; Chen *et al.*, 2016). La evaluación en la rentabilidad de este tipo de inversiones a medio y largo plazo puede resultar complicada debido al gran número de factores técnicos y sus interacciones que deben de ser contempladas para una aproximación realista, lo cual solo puede lograrse mediante modelos matemáticos complejos. El uso de una herramienta de simulación probabilística en la que el usuario pueda configurar las características propias de la granja, ha demostrado ser capaz de explorar estas consecuencias a medio y largo plazo de una manera accesible y practica (Calsamiglia *et al.*, 2016).

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos del EC, y el impacto técnico y económico de SEE en 3 zonas de España.

MATERIALES Y MÉTODOS

Datos climatológicos de temperatura (ºC) y humedad relativa (HR %) de los años 2006 a 2016, de 3 zonas de España, Dos Hermanas en Andalucía (**DH**), Toledo en Castilla de la Mancha (**TL**) y Lugo en Galicia (**LG**) (SiAR, 2016), fueron sometidos al modelo de respuesta biológica para estimar los efectos del EC propuesto por St. Pierre (2003) calculando el índice de temperatura y humedad (**ITH**) de acuerdo a la fórmula del NRC (1971) y fijando el valor de ITH a los cuales se observan los efectos del EC en ^{3} 68 (Zimbelman *et al.*, 2009). Para simular los efectos del EC y el impacto del SEE durante 5 años, se utilizó un modelo de simulación de granjas estocástico y mecanistico disponible en línea (www.granjadevacas.es), en el cual se crearon 3 granjas con las mismas características técnicas y economías: 300 vacas, 30.5 L/vaca presente (10,800 L/vaca/año), tasa de preñez del 15 % y un precio de leche de 0.31 €/L. Se simularon 3 escenarios para cada una de las zonas; (1) **CTR** (Control), (2) **EC** (Efectos del EC) y (3) **EC+SEE** (Efectos del EC con SEE). La reducción de los efectos del EC por el SEE fue de un 50 % para todos los casos. La inversión inicial en el SEE (ventiladores y aspersores) se calculó en 65 euros vaca con una amortización a 7 años, y los costes variables (mantenimiento, agua y electricidad) fueron de 6 euros vaca/mes de funcionamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DH muestra la carga más elevada de ITH (12672 uds/año), seguida de TL (8633 uds/año) y LG (2228 uds/año), lo cual representa una pérdida de producción de leche en L/año de 738, 461 y 95 para DH, TL y LG (Tabla 1). El margen bruto fue superior en los entornos de EC+SEE, que en EC en DH y TL, pero no para LG. En 5 años de simulación el aumento de margen de ganancia logro que la inversión se amortizara a partir del tercer año para DH y el cuarto para TL. La amplia gama de factores contemplados en el simulador permite realizar valoraciones realistas y objetivas de posibles inversiones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calsamiglia, S., Castillejos, L., Astiz, S., López, C., & Baucells, J. 2016. Herd Health Management: Dairy, WBC-716.
1. 2. Chen, J., Schu?tz, K., Tucker, C. 2016. J. Dairy Sci. 99: 4607-4618.

3. Dhuyvetter, K., Kastens, T., Brouk, M., Smith, J., & Harner J. 2000. Heart of America Dairy Management Conf., St. Joseph, MO.
4. 1971. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
5. Kadzere, C., Murphy, M., Silanikove, N., & Maltz, E. 2002. Prod. Sci. 77:59–91.
6. Sistema de Información Agroclimática para el Regadío. (Acceso 15 de enero de 2017, http://eportal.magrama.gob.es/websiar/Inicio.aspx).
7. St-Pierre, N., Cobanov, B., & Schnitkey, G. 2003. J. Dairy Sci. 86 (E.Suppl.): 52–77.
8. Zimbelman, R., Rhoads, R., Rhoads, M., Duff, G., Baumgard,, & Collier, R. 2009. Páginas 158–168 en Proc. Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ. Collier R., ed. Uni. of Arizona, Tucson.

Tabla 1. Efectos del estrés por calor (EC) y el impacto técnico económico de la inversión en sistemas de enfriamiento (EC+SEE) con 5 años de simulación para cada zona.

Indicadores técnicos	**CTR**	**EC**			**EC+SEE**		
		DH	**TL**	**LG**	**DH**	**TL**	**LG**
Producción de leche (L/día)	30.8	28.6	29.1	30.3	29.8	29.8	30.7
Pérdida producción de leche (L/vaca/año)	-	852	651	210	365	394	64
Disminución promedio durante el verano día) (L/día)	-	7.1	7.2	3.5	3.0	4.3	1.0
Tiempo de EC (meses)	-	4	3	2	4	3	2
Carga de ITH (uds/año)	-	12672	8633	2228	12672	8633	2228
Horas de EC (h/año)	-	2265	1700	668	2265	1700	668
Tasa de preñez (%)	14	12	12	13	13	14	13
Indicadores económicos							
Costo alimentación €/vaca/año)	2157	1980	2017	2102	2068	2085	2128
Ingresos de venta de leche (€x1000 año0)	1060	962	997	1035	1019	1072	1096
Margen bruto (€/vaca/año)	269	144	213	253	190	240	248

EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE SUSTANCIAS FARMACOLÓGICAS EN AGUA EN EXPLOTACIONES GANADERAS LECHERAS DE LUGO

Nebot C, Veiga-Gómez M, Quintela LA, Becerra JJ, Verdes S, Díaz P, Díaz- Cao JM, Cepeda A, Franco CM

Hasta la fecha se han publicado numerosos estudios que confirman la presencia de sustancias farmacológicas en aguas potables de países como EE.UU, Alemania y España como consecuencia de su entrada al medio ambiente y posteriormente a la cadena alimentaria. El empleo de sustancias activas tanto en medicina humana como en medicina veterinaria es necesario para tratar y evitar enfermedades, sin embargo, su uso abusivo, su mala eliminación por las plantas de tratamiento de aguas residuales así como liberación directa al medio ambiente (fugas de industrias productoras de medicamentos, piscifactorías, aplicación de purín como fertilizantes, etc.) ha dado lugar a su entrada al medio ambiente (Kümmerer, 2009; Gaffney *et al.*, 2015).

A pesar de que la administración de medicamentos veterinarios en producción animal es algo que está legislado y muy controlado, la posible presencia de sustancias farmacológicas en las aguas suministradas a los animales no está ni legislada ni controlada.

El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia de residuos de sustancias con efectos farmacológicos en aguas obtenidas de bebederos de explotaciones lecheras de la provincia de Lugo. La técnica analítica seleccionada fue HPLC-ESI-MS/MS ya que permite identificar y cuantificar simultáneamente un gran número de sustancias de manera sensible, selectiva y rápida. Se tomaron un total de 108 muestras recogidas a lo largo de 15 semanas, entre los meses de febrero y junio de 2015.

Se analizó la presencia de 19 fármacos en 122 muestras y se detectaron 16 fármacos siendo el trimetroprim, decoquinato, sulfadiazina y sulfadimetoxina las más frecuentes, presentes en 20, 11, 11 y 9 muestras, respectivamente. En el 59% de las muestras no se detectaron fármacos y en 13% más de un fármaco diferentes, llamando la atención la detección de 5 fármacos en tres granjas. Las concentraciones medidas se encontraban entre 13 ng/L y 5765 ng/L. La presencia de uno o una mezcla de fármacos en el agua que se suministra a vacas productoras de leches pueden dar lugar a diferentes tipos de complicaciones tales como resultados positivo a la presencia de fármacos en las muestras de leche, alteración de la microbiota del animal, así como otro tipo de enfermedades en el animal si dicho consumo es prolongado.

Tras realizar el análisis estadístico se encontraron diferencias significativas en la fertilizad de las granjas en función de la presencia de monensina pero no se encontró relación estadísticamente significativa con los 40 parámetros evaluados relativos al bienestar animal.

Agradecimientos

Trabajo realizado gracias a una Ayuda para la Consolidación y Estructuración de unidades de investigación competitivas-Redes (2017-PG117; Xunta de Galicia)

REFERENCIAS:

Kümmerer, K. (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use–present knowledge and future challenges. *Journal of environmental management*, *90*(8), 2354-2366.

de Jesus Gaffney, V., Almeida, C. M., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M. J., & Cardoso,

V. V. (2015). Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water research*, *72*, 199-208.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA EN EXPLOTACIONES GANADERAS LECHERAS DE LUGO

Nebot C; Veiga-Gomez M, Verdes S, Herradon PG, Prieto A, Díez-Baños P, Cepeda A, Franco CM

A pesar de que la cantidad de agua que debe ingerir una vaca en plena actividad depende de la edad, temperatura ambiental y, sobre todo, del tipo de alimentación que recibe, se estima que las vacas lecheras de alto rendimiento consumen aproximadamente unos 150 L de agua al día. Poco a poco el interés de los ganaderos por la calidad de dicha agua aumenta. Sin em-

bargo, el término “calidad del agua” engloba una gran cantidad de parámetros medibles para agua de consumo humano pero no está definido como tal para animales de abasto, además de no existir una legislación específica.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la contaminación microbiológica del agua mediante el estudio de aerobios mesófilos y coliformes totales en el agua de bebederos pertenecientes a explotaciones de vacuno lechero de la provincia de Lugo ya que Galicia es la comunidad autónoma con mayor cantidad de explotaciones productores de leche, un 55% del total.

Clasificamos el agua como “buena” cuando las unidades formadoras de colonias de aerobios mesófilos eran menor de 1000 y “mala” para mayores de 1000, siguiendo los criterios establecidos en el Real Decreato 140/2003, para agua de consumo humano. Por otro lado, clasificamos el agua de mala calidad cuando había presencia de coliformes y de buena calidad cuando no había presencia, en base a dicha normativa, como marcador de contaminación fecal. La presencia de coliformes en aguas de bebida, además de representar un riesgo per se, ya que esta familia engloba a bacterias facultativamente patógenas, es también un riesgo ya que otros tipos de patógenos más virulentos como *Salmonella* spp., que comparte con los coliformes el hábitat natural y las vías de diseminación. En base a esta clasificación, según el parámetro aerobios mesófilos, el 2% de las aguas recogidas en salas y el 24 de las recogidas en bebederos eran de mala calidad. Por otro lado, el 23% de las muestras recogidas en sala y el 70% de los bebederos no cumplían el requisito de ausencia total de coliformes. En general, se puede concluir que el agua recogida en las salas de ordeño eran de mayor calidad microbiológica que las recogidas en los bebederos de los animales. Estos resultados indican que los protocolos de limpieza y desinfección de las salas de ordeño son significativamente mejores que en los bebederos animales, lo cual señala que el riesgo para la salud de los animales es superior al que representa la leche que producen para los humanos. No obstante, tras realizar el análisis estadístico para relacionar los parámetros microbiológicos del agua con la fertilidad y 40 parámetros relativos al bien estar animal, los resultados indicaron que no existe una relación estadísticamente significativa entre ellos.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado gracias a una Ayuda para la Consolidación y Estructuración de unidades de investigación competitivas-Redes (2017-PG117; Xunta de Galicia).