

Capítulo

7

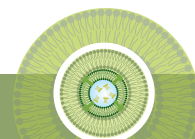
Uso de muestras de leche como indicador de salud y para la vigilancia de enfermedades en el hato

J.L. Zambrano-Varón¹ DVM, MPVM, PhD, Dipl ACT.

1. Introducción

Uno de los fundamentos de salud del hato es prevenir el efecto negativo de las enfermedades sobre la productividad. Por ello, se deben establecer sistemas de vigilancia eficientes que permitan reconocer alertas tempranas de problemas de salud, especialmente de enfermedades subclínicas, pues estas son responsables de la mayor cantidad de pérdidas económicas y de una tasa mayor de morbilidad. Tradicionalmente, la aproximación al diagnóstico de enfermedades y trastornos metabóli-

1. Grupo de Reproducción Animal y Salud de Hato, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, jlzambanov@unal.edu.co



cos ha tenido un enfoque de tipo individual; sin embargo, en la actualidad se recomienda un enfoque de la salud de poblaciones con el fin de hacer prevención y no curación.

Algunas enfermedades van acompañadas de metabolitos que pueden ser identificados en leche. Esto permite establecer asociaciones con la calidad de la leche; establecer los factores que afectan la productividad de los hatos, como la producción de leche y la eficiencia reproductiva, y el seguimiento y efecto de enfermedades infecciosas y metabólicas de origen nutricional.

En este capítulo se discutirán algunas condiciones de salud que pueden ser diagnosticadas y vigiladas a través del uso de muestras de leche.

2. Estrategias de vigilancia epidemiológica de enfermedades infecciosas

Pruebas de hato: la implementación de pruebas de diagnóstico a nivel hato permite establecer la ocurrencia de exposición o presentación de enfermedades en grupos de animales (Christensen & Gardner, 2000).

Las muestras de tanque de leche se usan para el seguimiento y vigilancia de enfermedades infecciosas por razones económicas y logísticas, ya que resulta barato y fácil comparado con los muestreos individuales (Reichel, Lanyon & Hill, 2016). Su correcta interpretación requiere no solamente del conocimiento de cada enfermedad, sino del uso de conceptos epidemiológicos y métodos estadísticos para determinar el o los grupos en riesgo, el tamaño de la muestra, la frecuencia y el tipo de seguimiento. Además, es importante el conocimiento de las pruebas diagnósticas que se van a utilizar y considerar su sensibilidad y especificidad, los valores predictivos y sus puntos de corte.

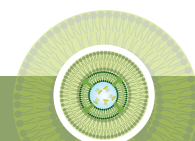


Vale la pena aclarar que la **sensibilidad** de una prueba de diagnóstico es la probabilidad condicional de que el resultado positivo identifique animales verdaderamente infectados, mientras que la **especificidad** es la probabilidad condicional de que el resultado de una prueba sea negativo en los individuos no infectados. Adicionalmente, **el valor predictivo positivo** indica cuál es la proporción de animales positivos a la prueba, es decir que están verdaderamente infectados, mientras que el valor predictivo negativo indica la proporción de animales negativos a la prueba, aquellos que verdaderamente no están no infectados. Finalmente, **el punto de corte** es el valor o el resultado de la prueba que, con mayor probabilidad, identifica un estado de enfermedad o una condición clínica específica (Hajian-Tilaki, 2018).

Las pruebas pueden detectar los antígenos o los anticuerpos. Las pruebas que detectan el **antígeno** indican la presencia de la enfermedad y sugieren estados de infección. Las pruebas que detectan **anticuerpos** pueden indicar exposición (pasada o presente), vacunación (dependiendo de la capacidad de la prueba para reconocer entre vacunados e infectados) o, dependiendo del patógeno, pueden significar inmunidad o infección.

El monitoreo de los cambios en los niveles de anticuerpos busca establecer alertas para la detección temprana de situaciones que indiquen un incremento en el riesgo de infección. Un resultado de una prueba de leche de tanque por encima del **punto de corte** significa que, en ese momento, los niveles de anticuerpos presentes en la muestra que representa esa población son elevados y, por tanto, constituyen una alerta que puede indicar circulación natural del patógeno o vacunaciones recientes.

Desde el punto de vista poblacional, cuando se realizan controles repetidos en el tiempo los resultados de **anticuerpos** en leche representan



el nivel de exposición a patógenos de todas las hembras adultas en producción. Por ello, es recomendable realizar muestreos con una periodicidad de al menos cada tres meses, así se puede obtener información de la mayor parte del hato en un año (Pritchard, 2001).

El uso de muestras de leche en hatos para el diagnóstico y monitoreo de enfermedades a través de la medición de anticuerpos ha sido documentada para investigar los niveles de exposición contra diversos patógenos como: *Brucella abortus* (McGiven et al. 2003; Nielsen & Gall, 2001; Nielsen et al. 1996), Virus de Diarrea Viral Bovina (Hanon et al. 2018; Lanyon, et al., 2014; Sayers et al., 2015), Herpes Virus Bovino tipo 1 (HVB-1) (Muratore et al., 2017; Reber et al., 2012; Van Wuijckhuise et al., 1998), *Neospora caninum* (Bartels et al. 2007; O' Doherty et al., 2014), *Leptospira hardjo* (Miyama et al., 2018), Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) (García & Olivera-Angel, 2019; Nekouei et al., 2015), *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) (Collins et al., 2005). *Salmonella* spp., *Coxiella burnetii*, *Fasciola hepática*, *Ostertagia ostertagi* (Velasova et al., 2017) y *Dictyocaulus viviparus* (McCarthy et al., 2019).

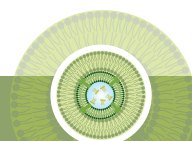
Estas enfermedades repercuten sobre el desempeño reproductivo de los hatos bovinos, lo cual impacta económicamente la empresa ganadera pues afecta positiva o negativamente los costos de producción (Peter, 2000; De Vries, 2006). Se ha descrito extensamente el efecto de algunos patógenos como DVB, HVB-1, diferentes serovares de *Leptospira* (*hardjo*, *pomona*, *prajitno*, *interrogans*), *Neospora caninum* y *Brucella abortus*, esta última es de reporte oficial (Avila-Granados et al., 2019). Algunas de las manifestaciones clínicas de este grupo de enfermedades incluyen: pérdidas embrionarias (Berg et al., 2010) y fetales, momificación y maceración fetal, nacimiento de terneras débiles, mortalidad perinatal, infecciones del tracto reproductivo, retención de membranas fetales,



infertilidad (Anderson, 2007; Clothier & Anderson, 2016; Taylor & Njaa, 2012), endometritis y metritis (Sheldon et al., 2006). Los efectos directos de estas enfermedades recaen en el aumento en los intervalos entre partos y los días en leche; los indirectos son el incremento en la tasa de descarte, en los tratamientos y en el control sanitario. Estas enfermedades también afectan indirectamente la producción efectiva de leche por lactancia.

Realizar de manera regular los controles establece un sistema de vigilancia epidemiológica que permite describir los cambios en los niveles de anticuerpos en el tiempo y determinar las épocas en las que el riesgo de exposición aumenta, identificar zonas de mayor exposición y factores de riesgo, así como la magnitud y las consecuencias de la exposición (Zambrano-Varon & Thurmond, 2009). Estos resultados contribuyen al control de algunos patógenos y proporcionan herramientas para: (i) la generación de políticas de salud que incluyan temas de bioseguridad, vacunación, categorización de hatos por su nivel de riesgo, pautas para el control de la movilización de animales entre hatos y entre zonas de alto y bajo riesgo de la enfermedad; y (ii) el establecimiento de programas locales, regionales o de corte nacional para enfermedades en programas oficiales de control o erradicación (Van Winden & Pfeiffer, 2008).

El éxito del análisis de los resultados derivados del uso de muestras de leche de tanque tiene que ver con la selección de pruebas diagnósticas acreditadas, estándares de calidad y validaciones adecuadas (Gardner, 2010; Greiner & Gardner, 2000). Los resultados se deben entender e interpretar teniendo en cuenta la sensibilidad, especificidad, los valores predictivos, los puntos de corte de cada prueba y el propósito del muestreo (Carpenter & Gardner, 1996; Enøe et al., 2000; Valle et al., 2001; Zambrano-Varón, 2014).



2.1. Establecer el nivel de exposición y presencia de patógenos en una población

En muchas ocasiones los resultados de las pruebas de diagnóstico basadas en la detección de **anticuerpos** proporcionan resultados que son dicótomos (positivo o negativo). Esto debe interpretarse con precaución cuando el estudio se realiza en leche de tanque, ya que los resultados positivos no necesariamente sugieren infección, sino que pueden indicar que los animales han tenido niveles variables de exposición, es decir que han estado en contacto con el patógeno. Para interpretar de manera más acertada los cambios en los niveles de exposición se pueden utilizar los porcentajes de positividad de las pruebas en vez de los resultados dicótomos; de esta manera, al realizar el seguimiento se evalúa la dinámica y variación temporal de los anticuerpos producidos como resultado de la exposición (Figura 1).

Esta forma de interpretación permite entender cómo los animales se exponen a un patógeno y cómo cambia el nivel de exposición en el tiempo (Figura 1); además sugiere si la enfermedad puede o no estar presente (Figura 2). Por tanto, es posible considerar que un hato ha estado **expuesto** a una determinada enfermedad cuando se obtienen resultados positivos o por encima de los puntos de corte en muestreos sucesivos; si durante el seguimiento se obtienen resultados negativos o por debajo del punto de corte en todos los muestreos, se considera que **no** estuvo expuesto (Reber et al., 2012) (ver el ejemplo para HVB-1 y para DVB en la Figura 1).

Los resultados están expresados en el porcentaje de anticuerpos detectados en las pruebas (porcentaje de positividad) según su punto de corte e indican la concentración de **anticuerpos** en la muestra. Las líneas punteadas transversales representan los puntos de corte de las pruebas

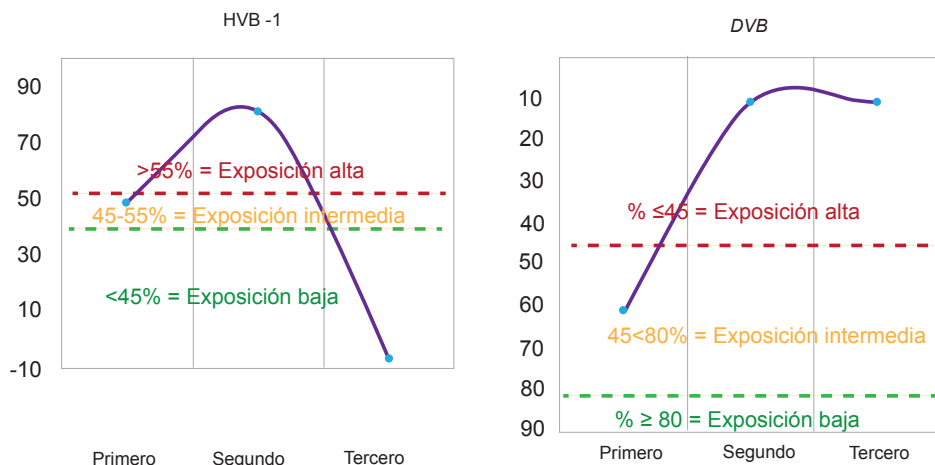
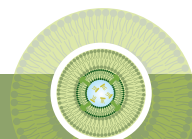


Figura 1. Medición de anticuerpos contra HVB-1 y DVB. Variación trimestral (eje X) del porcentaje de positividad de la prueba versus concentración de anticuerpos (eje Y). Muestras de leche de tanque de diferentes predios (n=46) en un municipio de Cundinamarca.

Fuente: Vergara-Galván, 2019.

de diagnóstico. En el caso de HVB-1 el punto de corte para un resultado positivo es $>55.0\%$, mientras que para DVB es $<45.0\%$. La línea púrpura representa la variación trimestral en el porcentaje de anticuerpos detectados.

En este caso, el hallazgo de un resultado por encima del punto de corte (positivo) significa que los porcentajes de anticuerpos detectados son altos. Es importante resaltar que cuando los resultados de este tipo de pruebas son negativos, se debe entender que los porcentajes de anticuerpos detectados están por debajo de los puntos de corte, pero no quiere decir que no se detectan anticuerpos. El aumento o disminución en las concentraciones de anticuerpos puede indicar el nivel de exposición a un determinado patógeno y su variación en el tiempo. Las líneas



azules verticales representan el intervalo de tiempo entre muestreos (Vergara-Galván, 2019).

En la Figura 1 se puede observar que la **exposición** al HVB-1 aumenta entre el primer y segundo muestreo y disminuye entre el segundo y tercero. Para interpretar estos resultados de hato, se debe considerar si entre el primer y segundo muestreo hubo vacunaciones, ingreso de animales nuevos, ventas de animales e incidencia de patologías asociadas. Si ninguno de los factores anteriores ha ocurrido, se sugiere que hay tanto exposición natural como circulación o presentación de infecciones agudas con HVB-1. La disminución observada en el tercer muestreo puede corresponder a situaciones en la cuales se secaron o vendieron animales con infecciones activas, o la respuesta a una exposición a una cepa de campo o a una vacunación que pasó su fase aguda. En contraste, en el caso de DVB la variación en los niveles de **anticuerpos** entre el primer y el tercer muestreo sugieren un incremento creciente en la exposición al virus.

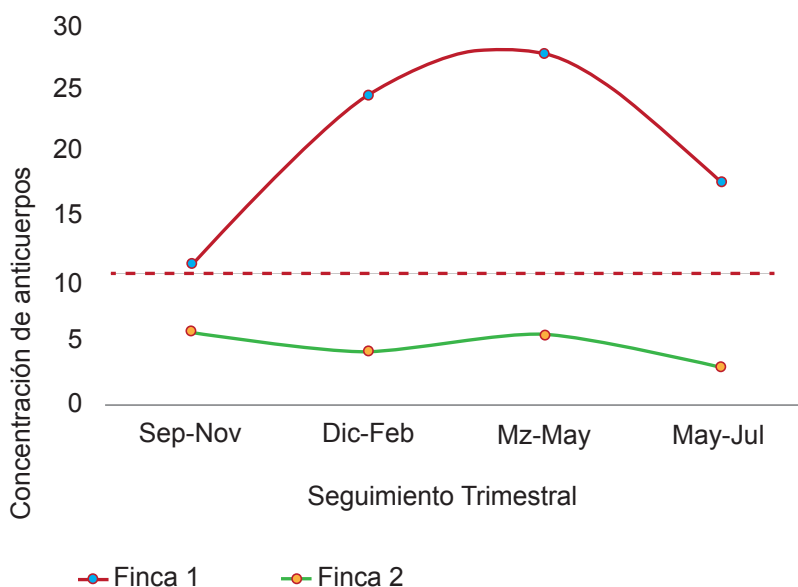
Las alertas pueden ser interpretadas de diferentes formas: 1) algunos de los hatos están utilizando vacunas vivas modificadas, 2) hay hatos abiertos con ingreso de animales en estados de infección no determinados, 3) hay hatos no vacunados con circulación de cepas de campo, 4) hay hatos con presencia de animales persistentemente infectados (PI) (estos PI son animales que permanentemente eliminan el virus sin presentar sintomatología, lo que los convierte en un riesgo de infección en el hato) (Buitrago-Horta et al., 2018). Si después de analizar cada situación se sospecha la presencia de animales PI, se deben realizar pruebas individuales que detecten el **antígeno** para identificarlos y confirmarlos. Esto es determinante para el control y erradicación de la enfermedad por el virus de DVB (Zambrano-Varón et al., 2018) (Datos no publicados, 2019).



2.2 Vigilancia epidemiológica y clasificación de los hatos

Establecer puntos de control y vigilancia activa a través del seguimiento a los niveles de exposición es una acción económica y benéfica, en la que una alerta en tanque de leche genera una respuesta más rápida y permite establecer medidas de diagnóstico individual en momentos de riesgo.

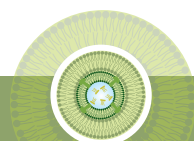
En la Figura 2 se puede ver el resultado del seguimiento de dos fincas. En la Finca 1 (línea roja) los niveles de anticuerpos superan el punto de corte de la prueba durante todo el seguimiento, lo que sugiere una alta exposición a *B. abortus* con comportamiento endémico de la enfermedad. La Finca 2 se mantiene por debajo del porcentaje de punto de corte (línea punteada).



*Línea punteada roja es el punto de corte de la prueba.

Figura 2. Vigilancia epidemiológica a través de muestras de leche de tanque. Resultados del nivel de exposición a *Brucella abortus* en dos hatos.

Fuente: elaboración propia a partir de datos sin publicar.



En el caso de la Finca 1 se debe realizar un muestreo individual de los animales del hato y determinar si efectivamente el aumento de anticuerpos detectados en la muestra de tanque corresponde a la presencia de animales que se expusieron o se infectaron recientemente con *B. abortus*. El hallazgo posterior de animales positivos a pruebas confirmatorias permitirá establecer si existe una exposición con transmisión activa de la enfermedad. Adicionalmente, se debe considerar en el diagnóstico de la infección activa la presentación concomitante de casos clínicos de aborto y otras patologías asociadas con la enfermedad. En estos casos, la realización de cultivos bacteriológicos de muestras del feto o la placenta o pruebas moleculares como PCR podrán confirmar el estado de infección de la población. Es de gran utilidad poder determinar la diferencia entre un hato expuesto y un hato infectado en virtud de las diferentes medidas de control que se pueden adoptar en cada caso.

La Finca 2 (línea verde), por su parte, no generó una alerta de riesgo de exposición durante todo el periodo de seguimiento.

Esta forma de seguimiento permite clasificar los hatos, municipios o regiones según su nivel de exposición en riesgo **alto o bajo**. En este caso, la Finca 1 tiene un riesgo mayor de exposición comparado con la Finca 2, que por el bajo nivel de anticuerpos observados no sugiere una alerta de exposición activa al patógeno.

Las pruebas en leche no son confiables si se usan una sola vez, se necesita identificar patrones a lo largo del tiempo para observar tendencias y así evitar la sobreinterpretación de cambios inesperados; por ello, es recomendable realizar un muestreo al menos cada tres meses a lo largo del año. La población de animales lactantes cambia con el tiempo y un aumento o disminución de anticuerpos puede ser ocasionado por la inclusión de animales que recién inician la lactancia. Se debe considerar



que, aunque solo los animales lactantes contribuyen a la muestra, los no lactantes y aquellos en tiempo de retiro son igualmente importantes en el seguimiento de enfermedades infecciosas.

2.3 Prevalencia de hatos expuestos – nivel regional

Los resultados de las pruebas en leche permiten establecer la prevalencia de exposición poblacional a través del tiempo para 4 agentes diferentes, como se puede ver en la Figura 3.

La prevalencia de exposición a los diferentes agentes en los hatos varió entre el 56.0 y el 68,4% para el DVB, mientras que para el HVB-1 varió entre 30,4 y el 31,8%; el rango para *N. caninum* osciló entre el 71,9 y el 90,3% y

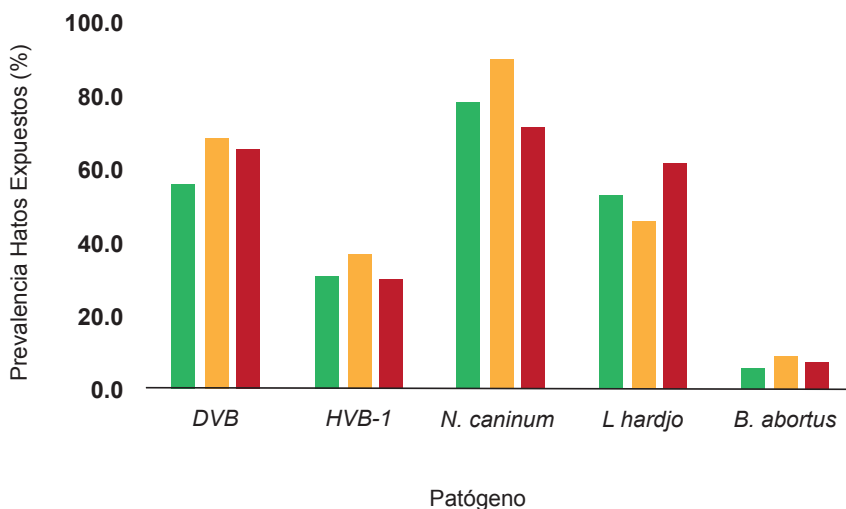
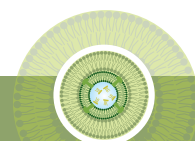


Figura 3. Variación de la prevalencia hatos expuestos a diferentes patógenos evaluados en muestras de leche de tanque (n= 316) en el Departamento de Cundinamarca.

Fuente: Jiménez-Escobar, Muñoz, & Zambrano-Varón, 2018. (Datos sin publicar)



para *Leptospira hardjo* entre el 46,1 y el 62,2%. Para *B. abortus*, enfermedad en proceso de erradicación, varió entre el 5.6 y 8.5% (Figura 3).

Como se puede apreciar, el nivel de exposición es variable; en todos los casos la tendencia sugiere un comportamiento endémico porque no hay cambios drásticos en la prevalencia. En esta región particularmente no se utilizan vacunas contra patógenos de tipo reproductivo, con excepción de la vacuna contra brucelosis (la cual es de carácter obligatorio).

Se puede inferir que el hallazgo de anticuerpos contra los diferentes patógenos es el resultado de una exposición natural con circulación de cepas de campo. Los resultados positivos no necesariamente implican la presencia de una infección activa del hato que esté generando problemas clínicos. Puede deberse a la presencia de casos individuales de animales que pudieron sufrir la enfermedad de forma aguda con eliminación temporal del patógeno, a animales que se encuentran en fase de recuperación o a vacunaciones recientes. En ausencia de síntomas clínicos se debe considerar que es posible que la exposición natural genere estados de inmunidad colectiva (inmunidad de hato o rebaño); sin embargo, en ausencia de vacunación se debe considerar que el patógeno está presente y por tanto se debe evaluar el riesgo, para ello se deben usar pruebas individuales.

Los servicios veterinarios deben participar como apoyo y realizar el seguimiento mensual con evaluación y recolección de información relacionada a la presentación de síntomas como abortos, retención de membranas fetales y otras enfermedades reproductivas, así como las tasas de muerte neonatal. Con estos datos se puede determinar la asociación causal de la posible enfermedad con los patrones de anticuerpos observados.

Con relación a los hallazgos de exposición a *B. abortus*, se debe considerar que debido a que la prueba usada es de tamiz, y por tanto su sensi-



bilidad es alta pero la especificidad baja, no se puede interpretar como indicativo de infección activa. Los resultados se deben interpretar como una alerta para las autoridades sanitarias, quienes deben investigar a nivel individual la presencia de animales con infecciones activas que podrían ser fuente de contagio.

2.4. Estudios de Factores de Riesgo – programas de control y prevención

Un nivel adicional sobre el uso de muestras de tanque se deriva de las lecciones aprendidas de la experiencia de otros países. Se ha entendido que el diseño y aplicación de un programa adecuado de prevención o control de enfermedades a nivel nacional o regional, sumado al seguimiento del progreso de dicho programa, debe basarse en el conocimiento de la incidencia, la dinámica y la distribución temporal y geográfica de la enfermedad, así como de la identificación de los factores de riesgo (Ackermann & Engels, 2006; Bartels et al., 2007; Houe et al., 2006; O’Doherty et al., 2014; Sayers et al., 2015). Estos análisis son fundamentales para la toma de decisiones y para justificar los correctivos y ajustes a un programa nacional de control de enfermedades infecciosas, pues permiten establecer métodos más precisos de control y prevención para generar políticas de salud animal adecuadas.

Zambrano y colaboradores (2018) identificaron una asociación de riesgo entre los resultados de los seguimientos de exposición a patógenos y los factores de bioseguridad. Se procesaron muestras de tanque de leche durante un periodo de dos años (Tabla 1) y, como se desprende del análisis de la Tabla 1, se identificaron situaciones de bioseguridad que favorecen el incremento de los niveles de anticuerpos en leche (Zambrano-Varón et al., 2018).

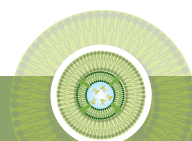


Tabla 1. Asociación entre los niveles de exposición contra diversos patógenos medidos en muestras de tanque de leche (n=95) en un municipio de Cundinamarca y algunos aspectos de bioseguridad de los hatos.

Patógeno	Categoría de la variable	N	RR**	Intervalo de confianza 95%***	P-valor
DVB	Muestrear para comprar animales				
	Sí	38	-	-	-
	No	56	6.4	1.3 – 10.4	0.01*
	Muestrear para movilizar				
	No	70	7.6	1.7 - 16.7	0.02*
HVB-1	Muestrear para movilizar				
	Sí	59	-	-	-
	No	35	3.7	1.4 - 10.0	0.01*
N. caninum	Baja tasa de descarte				
	Sí	8	-	-	-
	No	87	13.1	1.8 - 97.8	0.01*
L. hardjo	Monta directa (préstamo)				
	No	83	-	-	-
	Sí	12	5.2	3.8 - 13.8	0.01*

*Valores P < 0.05 son estadísticamente significativos, ** RR: riesgo relativo, *** Intervalo de confianza 95%

Fuente: J. L. Zambrano-Varón et al., 2018. (Datos sin publicar)

De estos resultados se interpreta que aquellos hatos donde no se realizan pruebas de diagnóstico para comprar animales tienen un riesgo casi siete veces mayor de tener una mayor exposición al virus de DVB (RR= 6.4, IC 95% (1.3 - 10.4), P<0.01), en comparación con aquellos en donde sí se realizan pruebas diagnósticas antes de la compra e introducción de animales nuevos a la finca. La movilización de animales sin pruebas diagnósticas entre hatos se identificó como un factor de riesgo

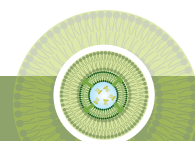


para una mayor exposición al virus de DVB y HVB-1 (RR=7.6, IC 95% (1.7 - 16.7), $p=0.02$, y RR=3.7, IC 95% (1.4 - 10.0), $p=0.01$, respectivamente). Por otro lado, se observó que la baja tasa de descarte posiblemente asociada con retención de hembras con problemas reproductivos fue un factor de riesgo de exposición a *N. caninum* (RR=13.1, IC 95% (1.8 - 97.8), $p=0.01$). Finalmente el préstamo indiscriminado de toros entre fincas con fines reproductivos resultó en un incremento en el riesgo de de exposición a *Leptospira hardjo* entre hatos (RR=5.2, IC 95% (3.8 - 13.8), $p=0.01$).

Se puede observar claramente que hay situaciones que vulneran la bioseguridad de los hatos como: (1) no muestrear animales que se compran antes de introducirlos a un hato, (2) movilizar e ingresar animales sin conocer su estatus sanitario —lo que incluye el préstamo del toro entre hatos— y (3) retener animales posiblemente con problemas de tipo reproductivo como abortos habituales, entre otros. Identificar estos factores de riesgo y entender su magnitud permite implementar de manera relativamente fácil una estrategia de control, prevención y transmisión de enfermedades entre fincas basada en los resultados de la vigilancia epidemiológica. Además, como se mencionó anteriormente, es una forma de generar política sanitaria fundamentada en datos para una región, la cual se puede luego escalar a nivel nacional.

3. Enfermedades metabólicas: interpretación de pruebas de diagnóstico en leche

Comúnmente el resultado de una prueba serológica (en sangre o en leche), ya sea un metabolito o la medición de anticuerpos, se asocia con una enfermedad si el resultado se encuentra por encima de un umbral biológico (punto de corte). Este resultado es útil para determinar condiciones clínicas a nivel individual. Sin embargo, y para evitar errores



de interpretación a nivel hato, es importante ir más allá y considerar que los resultados colectivos de grupos de animales son el resultado de una situación de salud determinada donde no toda la población se encuentra necesariamente afectada. Por ello, para tomar decisiones y diagnosticar un evento de salud no es suficiente determinar que un resultado de una muestra se encuentra por encima de un punto de corte para diagnosticar un evento de salud, ni basarse únicamente en el promedio de los resultados del hato, o en un único resultado positivo o negativo. A nivel del hato es fundamental establecer la proporción de animales con resultados positivos dentro de una población y sus implicaciones en la salud colectiva.

El primer resultado obtenido en una muestra que representa a una población genera una **alerta**, que puede corresponder al incremento del riesgo de que la enfermedad o condición esté presente. Sin embargo, pero la interpretación única de promedio no permite hacer una interpretación acertada del resultado. Por ejemplo, la obtención de un valor promedio del MUN mensual en un hato de 25 mg/dl genera una preocupación, pero no permite estimar la población susceptible de presentar problemas debido a ese incremento, ni permite entender cómo el hato se ve afectado por ese resultado. En su lugar, es más aconsejable determinar cuál es la proporción o prevalencia de animales con valores de MUN por encima del punto de corte, para así entender la magnitud del problema y su posible asociación con la presentación de enfermedades en un hato.

3.1 Trastornos metabólicos y de salud de origen nutricional

La mayoría de los problemas de salud en bovinos lecheros tienden a ocurrir durante el periodo de transición, el cual comprende los eventos que ocurren 21 días antes y 21 días después del parto, debido al llamado balance energético negativo o BEN.



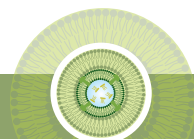
El BEN se relaciona con la dificultad de adaptación a las nuevas necesidades del animal al inicio de la lactancia, como son la creciente demanda de nutrientes, los cambios de manejo, el ingreso a un nuevo grupo etario, los cambios endocrinos y de alimentación. Todo lo anterior modifica la función metabólica e inmunológica y predispone al animal a una mayor frecuencia de presentación de enfermedades que afectan tanto la producción como la futura eficiencia reproductiva (Bjerre-Harpøth et al., 2012).

Las demandas de energía para la producción de leche no pueden ser satisfechas completamente por la dieta; por ello se activan mecanismos fisiológicos de adaptación para movilizar nutrientes de los tejidos corporales y mantener la producción de láctea. Sin embargo, este aumento de la carga metabólica constituye un factor de riesgo que puede conducir a un aumento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas y metabólicas. El BEN posparto se produce también por la disminución del consumo de materia seca debido al volumen del rumen —que durante el periodo de vaca seca se había reducido en tamaño—, a la disminución del apetito y al cambio en la cantidad y tipo de bacterias en el rumen.

Los análisis en leche de tanque que hace el laboratorio de rutina son el porcentaje de grasa, de proteína y su relación (G/P), el MUN, el β -hidroxibutirato (BHB) y la acetona. La interpretación de estos resultados puede identificar de manera temprana a grupos de animales en riesgo de sufrir desbalance metabólico atribuible a la alimentación.

3.2 Relación grasa/proteína (G/P)

El pH del rumen fluctúa durante el día: es casi neutro antes del consumo de alimento en la mañana y ácido después de la ingesta de alimento. Cuando los animales son alimentados con dietas altas en forraje, el pH se



mantiene entre 6.0 y 7.0, lo cual es óptimo para las bacterias celulolíticas. Al aumentar el consumo de grano el pH ruminal puede disminuir por debajo de 6.0. Este cambio de pH con valores en un rango de 5.2-6.01 se llama acidosis metabólica ruminal (ARSC). Aunque no existe un acuerdo general sobre el rango de pH, se ha estipulado que un pH ruminal <5.6 por al menos 180 min/día es suficiente para causar la enfermedad (Khafipour et al., 2009). Cabe aclarar que estudios realizados en Colombia, usando un medidor de pH ruminal que enviaba mediciones cada 2 horas, demostraron que las dietas suministradas a animales de pastoreo con diferentes tipos de alimentos balanceados servidos a la hora del ordeño no modifican el pH por debajo de 6, lo que indicaría que esta patología no se encuentra descrita en otras latitudes (Gómez et al., 2020).

Los valores de la relación G/P deben mantenerse entre 1.1 a 1.2, ya que los cambios de pH ruminal pueden causar depresión en la producción de grasa láctea y disminuir la relación G/P (Oetzel, 2004). Una relación entre grasa y proteína mucho más alta de 1.2 indicaría que la contribución de la grasa corporal a la leche es alta y podría significar casos de cetosis subclínica (Bauman & Griinari, 2001).

Una vez se detectan los cambios en la relación G/P durante el monitoreo en muestras del tanque de leche, se hace el análisis y seguimiento individual a los animales que se encuentra en el primer tercio de la lactancia, pues son los de mayor riesgo. Si tienen proporciones de G/P <1.1 se debe observar si hay cambios de comportamiento como depresión, cambios en la curva de producción de leche, inhabilidad de llegar al pico de producción, depresión del consumo de alimento, presentación de diarrea, laminitis, abscesos hepáticos, ruminitis o neumonía (Toni et al., 2011). Además, se deben revisar los parámetros de eficiencia reproductiva, la salud general al momento del parto, la supervivencia neonatal, la salud uterina

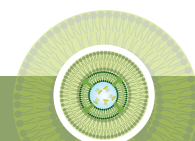


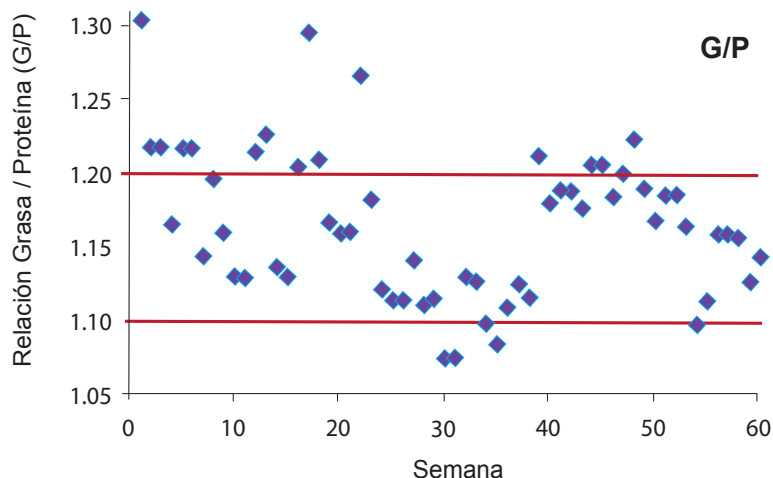
y la reactivación ovárica postparto (Drackley & Cardoso, 2014), la tasa de preñez y el establecimiento de una nueva gestación (Lucy et al., 2014).

Por otro lado, la ocurrencia de proporciones G/P entre 1.35 y 1.50 en vacas posparto sugiere deficiencias de energía en la dieta (Gross & Bruckmaier, 2019), lo que supone mayor riesgo de presentación de casos de cetosis, desplazamiento de abomaso, quistes ováricos, cojeras y mastitis (Duffield et al., 1997).

Se puede observar en la Figura 4 la forma en que se desvía la relación normal de G/P. Entre la semana 30 y 35 y en la semana 54 es menor de 1.1, lo cual indica una inversión severa de la relación, con disminución de la grasa en relación con la proteína. Esta observación genera una alerta que sugiere un efecto importante de la dieta durante las semanas mencionadas. Por el contrario, entre las semanas 1 y 25 y 38 y 49 la relación G/P se encuentra por encima de los límites. En este caso se observa una relación G/P mayor a 1.2, lo que sugiere un desarreglo en el suministro de energía de la dieta. Esta alerta debe ser seguida de otras estrategias diagnósticas, como la investigación de la variación de la concentración de BHB, acetona y MUN. Igualmente, se debe establecer la prevalencia individual de cetosis clínica o subclínica, las variaciones en la condición corporal y los cambios en la incidencia de patologías puerperales.

La inversión de la relación G/P individual se puede observar en la Figura 5, donde se presentan datos de un hato con un promedio de producción de leche-día de 2.4L/animal, con 3.4% de grasa y 3.20 % de proteína. A pesar de que los valores promedio lucen normales, se puede ver en el panel A que el 22.6% de los animales está presentando inversión en la relación G/P <1.1, lo cual muestra depresión en los porcentajes de grasa. En el panel B se observa que el 20.6% de los animales tiene una relación





*Las líneas rojas demarcan los rangos de una relación G/P adecuada.

Figura 4. Distribución semanal durante un año de la relación entre grasa y proteína (G/P) de un hato evaluado a través de muestras de tanque de leche.

Fuente: elaboración propia a partir de datos sin publicar.

G/P >1.2, lo cual indicaría problemas asociados al suministro o calidad de fibra o de energía. Estos hallazgos siempre deben valorarse junto a otros hallazgos, como la presentación de signos clínicos concomitantes o consecuentes: laminitis, disminución del consumo de materia seca, pérdida de condición corporal, alta tasa de descarte de vacas, alteraciones en la consistencia de la materia fecal, diarrea o disminución en la eficiencia reproductiva. Con estos hallazgos se puede consultar al experto en alimentación y nutrición para la implementación de ajustes (Humer et al., 2018).

3.3 Nitrógeno Ureico en leche (MUN)

El MUN representa la concentración de nitrógeno que aparece en la leche en forma de urea. Si el amoníaco no es utilizado por las bacterias del rumen para ser metabolizados a proteína microbiana, se absorbe

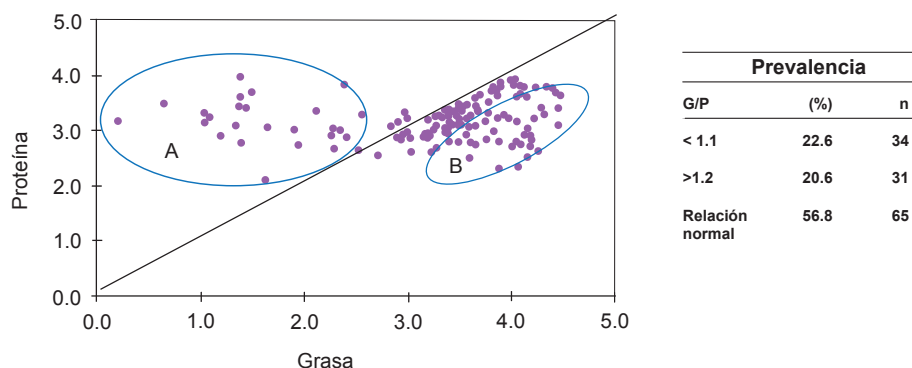


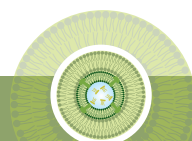
Figura 5. Distribución de la variación individual de la relación entre la grasa y la proteína de la leche en un hato (n=150).

Fuente: elaboración propia a partir de datos sin publicar.

a través de la pared del rumen y va a la circulación general. El hígado convierte el amoníaco en urea y la libera en la sangre como Nitrógeno ureico en sangre (Blood Urea Nitrogen - BUN). Así, es excretado a través de la orina (ruta principal), de la leche (como Nitrógeno ureico en leche (MUN)), en los fluidos uterinos o es reciclado al rumen por la saliva.

Las concentraciones de MUN son un buen indicador del equilibrio energético - proteico y por ello es un indicador sensible de la eficiencia de la utilización de proteínas (Kenny et al., 2002). Para asegurar que los animales tienen una dieta balanceada, es decir que la relación energía versus proteína está acorde con los requerimientos del hato, la concentración del MUN a nivel de hato debe estar entre 10 y 16mg/dl, con oscilaciones entre 2-3mg/dl dependiendo de la dieta (Siachos et al., 2019). Cuando la dieta tiene un exceso de proteína el MUN subirá hasta valores que oscilan entre 18 y 22mg/dl.

Los valores de MUN **altos** pueden reflejar problemas nutricionales como: desequilibrio proteico con altos niveles de proteína total; deficiencia de carbohidratos fermentables en el rumen (incluyendo almidón, pectina



o azúcares para capturar el amoníaco disponible en el rumen y usarlo como proteína microbiana) o ambiente microbiano del rumen inadecuado, con reducción de la flora ruminal que se produce a pH bajo, con dieta de poca fibra, perfil anormal de ácidos grasos volátiles o tasa de paso lenta (Bach et al., 2005).

Las concentraciones elevadas de MUN con un contenido de proteína de leche baja sugieren la presencia excesiva de proteína cruda, con una falta concomitante del suministro de fuentes de energía, lo que conduce a problemas en la salud, producción y reproducción del animal (Noussiainen et al., 2004), (Laeger et al., 2010). Además, los aumentos en las concentraciones de urea en leche se asocian con una mayor incidencia de fallas en la concepción (Albaaj et al., 2017; Butler, 1998; Melendez et al., 2003; Westwood et al., 1998).

Algunas de las consecuencias del fenómeno del MUN elevado incluyen: un mayor balance energético negativo (Westwood et al., 1998), toxicidad potencial de los subproductos directos del catabolismo proteico para los oocitos y los embriones, cambios de pH que afectan el medio ambiente uterino y oviductal (Kenny et al., 2002; Rhoads et al., 2004), mayor incidencia de quistes ováricos y función lútea disminuida (Leroy et al., 2008), cambios en la motilidad de los espermatozoides (Westwood et al., 1998), alteraciones en la secreción de Prostaglandina F2 alfa por el endometrio (Leroy et al., 2008) y una respuesta inmune uterina postparto deficiente (Cheng et al., 2015). Por tanto, aunque la determinación de la urea de la leche se utiliza como un indicador del desequilibrio proteico-energético en los hatos, los resultados deben ser analizados en conjunto con la información de la casuística y el desempeño reproductivo.

Las **bajas** concentraciones de MUN (<9.0mg/dl) durante las primeras semanas de lactancia, junto con un bajo porcentaje de proteína en le-



che, sugieren una alimentación deficiente en energía y proteína, o que la fuente de proteína es de baja calidad. Esto limita el suministro de aminoácidos a las bacterias del rumen, lo que disminuye la disponibilidad proteica en el duodeno y, por tanto, el aporte de proteína que requiere el animal es deficiente (Nousiainen, Shingfield, & Huhtanen, 2004).

La Figura 6 muestra la variación temporal de la concentración de MUN en un hato lechero, donde la prevalencia del incremento fue del 12.0%, es decir que el MUN superó los 20mg/dl en el 12% de los muestreos del año. Resultados >20 mg/dl se encontraron en el mes de noviembre, mientras que en los meses de febrero a octubre se mantuvo en un rango medio, entre 8-12mg/dl.

Nótese que si sólo se considerara que el valor promedio de MUN anual fue de 15.9 mg/dl, es decir en niveles normales, el promedio no genera una alerta. Por ello se requiere revisar el comportamiento **individual**.

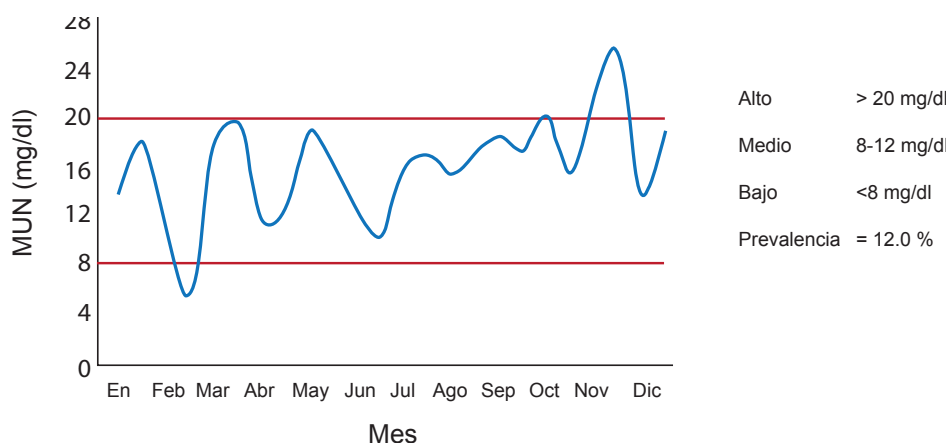
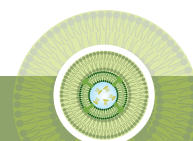


Figura 6. Distribución de la concentración de MUN (mg/dl) en leche de tanque de un hato durante un año.

Fuente: elaboración propia a partir de datos sin publicar.



Cuando se observan los resultados del MUN **individual** en el primer tercio de la lactancia (Figura 7), se puede establecer que el 45.5% de los animales presentan niveles \geq a 20mg/dl, lo que indica un marcado desbalance entre los niveles de proteína y energía.

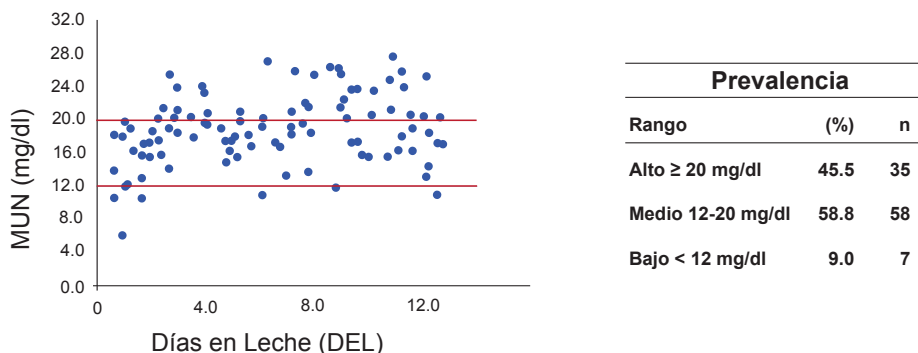


Figura 7. Distribución de las concentraciones individuales de MUN (mg/ mL) en un hato lechero durante el primer tercio de la lactancia (n=100).

Fuente: elaboración propia a partir de datos sin publicar.

Esta información debe ser analizada en conjunto con la disminución en la tasa de preñez a los 21 días, el incremento en las tasas de mortalidad embrionaria o una alta incidencia de condiciones anovulatorias.

4. Consideraciones generales del muestreo para el seguimiento epidemiológico de las enfermedades infecciosas y metabólicas: calidad, frecuencia y conservación

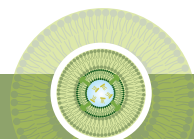
La toma de la muestra requiere una agitación y homogeneización previa de la leche del tanque o de la cantina. Para garantizar la homogeneidad de la muestra, se agitan los tanques pequeños durante 5 minutos o 10 minutos los tanques grandes (ver capítulo II).



Se recomienda aprovechar la rutina para pago, durante la cual se toma una muestra semanal para la evaluación de la calidad de leche. Se puede tomar otra muestra para la vigilancia de enfermedades de la producción, cuyo análisis debe incluir: recuento de células somáticas, unidades formadoras de colonias, y porcentaje de grasa, proteína, lactosa y biomarcadores como el MUN, BHB y acetona.

Con respecto a las **enfermedades infecciosas**, la frecuencia de muestreo en leche de tanque dependerá del tipo de enfermedad que se quiera vigilar, de los costos que se deriven de las estrategias de diagnóstico subsiguientes y de los costos asociados al control. Así, aunque se pueden realizar en cualquier momento, es recomendable una periodicidad trimestral con el fin de tener al menos cuatro puntos de referencia para comparar la variación anual de los anticuerpos de la mayoría de los animales del hato. De este modo se puede determinar la prevalencia de cada enfermedad y se pueden describir los cambios de dinámica de los anticuerpos en el año (John et al., 2018). Las muestras deben ser recolectadas del tanque, por duplicado, en tubos estériles de 50 ml tipo Falcon y se recomienda adicionar un preservante, como por ejemplo el 2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol®). Luego se refrigeran a una temperatura entre 5-7°C y se transportan al laboratorio a una temperatura entre 5-7°C y transportadas al laboratorio. El sustrato para leer la prueba es leche o suero de leche y se deben seguir las instrucciones del proveedor de la prueba.

Se pueden presentar problemas de interpretación cuando se trata con hatos grandes (>500 animales), debido a que la variabilidad de los resultados puede ser mayor (Frössling et al., 2006). Si se considera que el tamaño del hato está influenciando los resultados, se pueden enviar muestras de grupos de animales (pool), ya sea discriminados por edad,



grupo de producción o número de partos, o seleccionando al azar grupos de 50-100 animales, dependiendo de la enfermedad y de la estrategia de vigilancia establecida. Si la vigilancia es **individual** es necesario tomar muestras de cada vaca al momento del ordeño. Esta última estrategia ha sido especialmente benéfica en programas de erradicación o control obligatorio con muestreo y descarte de animales, ya que permite muestrear grupos de mayor riesgo y aumentar las posibilidades de detección de los animales infectados a través de incremento de la sensibilidad de la prueba (Raaperi et al., 2014).

Cuando se trata de pruebas para detección de **antígeno** se recomienda el uso de muestras que representen máximo 400 animales (Booth et al., 2013; Sayers et al., 2015; Van Winden & Pfeiffer, 2008; Velasova et al., 2017).

Con respecto a las **enfermedades metabólicas**, la frecuencia de muestreo está asociada a las estrategias de los programas de control lechero. Se recomienda a nivel individual al menos 10 muestreos al año o un muestreo mensual a nivel hato.

5. Conclusiones

- Las muestras de leche de tanque o individuales sirven como medio de diagnóstico de enfermedades metabólicas e infecciosas que afectan a los bovinos. Además, son fáciles de obtener ya que se pueden extraer regularmente durante el ordeño.
- La interpretación de resultados de pruebas de diagnóstico en leche de tanque requiere de interpretación poblacional.
- Es posible realizar esquemas de vigilancia epidemiológica activa utilizando muestras de leche individual o de tanque para conocer

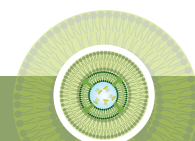


aspectos dinámicos de la transmisión y exposición de patógenos entre hatos o entre los animales de un predio.

- Los muestreos en leche de tanque son más económicos que los muestreos individuales.
- Las muestras de tanque permiten establecer alertas tempranas de exposición a patógenos y sirven para fortalecer la bioseguridad de los hatos.
- Las muestras de tanque permiten clasificar los hatos de acuerdo a los niveles de exposición a patógenos e identificar sus factores de riesgo.
- Los biomarcadores establecidos en la leche como los porcentajes de grasa y proteína y su relación, el BHB, acetona y MUN permiten generar información del estado metabólico de los bovinos lecheros y entender su relación con los eventos de salud.

Bibliografía

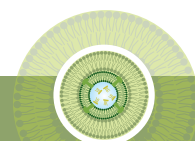
- Abdela, N. (2016). Sub-acute Ruminant Acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: A review of past and recent research at global prospective. *Achievements in the Life Sciences*, 10(2), 187-196. doi:10.1016/j.als.2016.11.006
- Ackermann, M. & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Vet Microbiol*, 113(3-4), 293-302.
- Albaaj, A., Foucras, G. & Raboisson, D. (2017). Changes in milk urea around insemination are negatively associated with conception success in dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(4), 3257-3265. doi:10.3168/jds.2016-12080
- Anderson, M.L. (2007). Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. *Theriogenology*, 68(3), 474-486.
- Avila-Granados, L.M., Garcia-Gonzalez, D.G., Zambrano-Varon, J.L. & Arenas-Gamboa, A.M. (2019). Brucellosis in Colombia: Current Status and Challenges in the Control of an Endemic Disease. *Front. Vet. Sci.* 6:321. doi: 10.3389/fvets.2019.00321



- Bach, A., Calsamiglia, S. & Stern, M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of dairy science*, 88, E9-E21. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7
- Bartels, C.J.M., van Schaik, G., van Maanen, K., Wouda, W. & Dijkstra, T. (2007). Factors associated with variation in *Neospora caninum* bulk-milk S/P ratios in initially bulk-milk negative testing Dutch dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 81(4), 265-273. doi:10.1016/j.prevetmed.2007.04.019
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70(1), 15-29. doi:10.1016/S0301-6226(01)00195-6
- Benedet, A., Manuelian, C.L., Zidi, A., Penasa, M. & De Marchi, M. (2019). Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 13(8), 1676-1689. doi:10.1017/S175173111900034X
- Berg, D.K., van Leeuwen, J., Beaumont, S., Berg, M. & Pfeffer, P.L. (2010). Embryo loss in cattle between days 7 and 16 of pregnancy. *Theriogenology*, 73(2), 250-260. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.09.005
- Bjerre-Harpøth, V., Friggens, N.C., Thorup, V.M., Larsen, T., Damgaard, B.M., Ingvarsen, K.L. & Moyes, K.M. (2012). Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *Journal of dairy science*, 95(5), 2362-2380. doi:10.3168/jds.2011-4419
- Booth, R., Cranwell, M. & Brownlie, J. (2013). Monitoring the bulk milk antibody response to BVDV: the effects of vaccination and herd infection status. *J Veterinary Record*, 172(17), 449-449.
- Buitrago-Horta, E.R., Jiménez-Escobar, C. & Zambrano-Varón, J.L. (2018). Identificación de factores asociados con la exposición al virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) en terneras de hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. *Rev. Med. Vet.*, 36(36), 63-73.
- Butler, W.R. (1998). Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 81(9), 2533-2539.
- Carpenter, T.E. & Gardner, I.A. (1996). Simulation modeling to determine herd-level predictive values and sensitivity based on individual-animal test sensitivity and specificity and sample size. *Preventive veterinary medicine*, 27(1), 57-66. doi:10.1016/0167-5877(95)00559-5



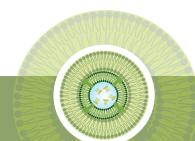
- Cheng, Z., Oguejiofor, C.F., Swangchan-Uthai, T., Carr, S. & Wathes, D.C. (2015). Relationships between circulating urea concentrations and endometrial function in postpartum dairy cows. *Animals: an open access journal from MDPI*, 5(3), 748-773. doi:10.3390/ani5030382
- Christensen, J. & Gardner, I.A. (2000). Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Preventive veterinary medicine*, 45(1-2), 83-106. doi:10.1016/s0167-5877(00)00118-5
- Clothier, K. & Anderson, M. (2016). Evaluation of bovine abortion cases and tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. *Theriogenology*, 85(5), 933-938. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.11.001
- Collins, M.T., Wells, S.J., Petrini, K.R., Collins, J.E., Schultz, R.D. & Whitlock, R.H. (2005). Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(6), 685-692.
- De Vries, A. (2006). Economic value of pregnancy in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 89(10), 3876-3885.
- Drackley, J.K & Cardoso, F. C. (2014). Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. *Animal*, 8(Suppl 1), 5-14. doi:10.1017/s1751731114000731
- Duffield, T., Lissemore, K., McBride, B. & Leslie, K. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of dairy science*, 92(2), 571-580.
- Duffield, T.F., Kelton, D.F., Leslie, K.E., Lissemore, K.D., & Lumsden, J.H. (1997). Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 38(11), 713-718.
- Enøe, C., Georgiadis, M.P. & Johnson, W.O. (2000). Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Preventive veterinary medicine*, 45(1), 61-81. doi:10.1016/S0167-5877(00)00117-3
- Frössling, J., Lindberg, A. & Björkman, C. (2006). Evaluation of an iscom ELISA used for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Preventive veterinary medicine*, 74(2), 120-129.
- García, R. & Olivera-Angel, M. (2019). Frecuencia de anticuerpos contra el virus de la leucosis bovina (VLB) en leche de tanque. *Revista MVZ Córdoba*, 24(3), 7362-7365.



- Gardner, I.A. (2010). Quality standards are needed for reporting of test accuracy studies for animal diseases. *Preventive veterinary medicine*, 97(3), 136-143. doi:10.1016/j.prevetmed.2010.09.009
- Gómez-Osorio LM, Posada-Ochoa SL, Rosero-Noguera R, Olivera-Angel M. (2020). Effect of carbohydrate source on productive performance, ruminal and systemic health of grazing cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 33. Recuperado de: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/341782/20802379>
- Goodridge, L., Hill, A.R. & Lencki, R.W. (2004). A review of international standards and the scientific literature on farm milk bulk-tank sampling protocols. *Journal of dairy science*, 87(9), 3099-3104. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73445-1
- Gordon, J.L., Leblanc, S.J. & Duffield, T.F. (2013). Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 29(2), 433-445. doi:10.1016/j.cvfa.2013.03.001
- Greiner, M. & Gardner, I. A. (2000). Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Preventive veterinary medicine*, 45(1), 3-22. doi:10.1016/S0167-5877(00)00114-8
- Gross, J.J. & Bruckmaier, R.M. (2019). Review: Metabolic challenges in lactating dairy cows and their assessment via established and novel indicators in milk. *Animal*, 13(S1), s75-s81. doi:10.1017/S175173111800349X
- Gruber, S. & Mansfeld, R. (2019). Herd health monitoring in dairy farms - discover metabolic diseases. An overview. [Gesundheitsmonitoring in Milchviehherden – Stoffwechselstörungen rechtzeitig erkennen. Ein Überblick]. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 47(4), 246-255. doi:10.1055/a-0949-1637
- Hajian-Tilaki, K. (2018). The choice of methods in determining the optimal cut-off value for quantitative diagnostic test evaluation. *Statistical Methods in Medical Research*, 27(8), 2374-2383. doi:10.1177/0962280216680383
- Hanon, J.B., De Baere, M., de la Ferté, C., Roelandt, S., Guillot, G., Van der Stede, Y. & Cay, B. (2018). Serological monitoring on milk and serum samples in a BVD eradication program: A field study in Belgium showing antibody ELISA performances and epidemiological aspects. *Preventive veterinary medicine*, 160, 136-144. doi:10.1016/j.prevetmed.2018.07.008
- Houe, H., Lindberg, A. & Moennig, V. (2006). Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 18(5), 427-436.



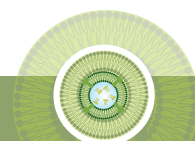
- Huhtanen, P. (1998). Supply of nutrients and productive responses in dairy cows given diets based on restrictively fermented silage. *Agricultural and food science*, 7(2), 219-250.
- Humer, E., Aschenbach, J.R., Neubauer, V., Kröger, I., Khiaosa-ard, R., Baumgartner, W. & Zebeli, Q. (2018). Signals for identifying cows at risk of subacute ruminal acidosis in dairy veterinary practice. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(2), 380-392. doi:10.1111/jpn.12850
- Ingvartsen, K.L. & Moyes, K. (2013). Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 7(Suppl 1), 112-122. doi:10.1017/S175173111200170X
- Jiménez-Escobar, C., Muñoz, M. A. & Zambrano-Varón, J. L. (2018). *Mejoramiento de la competitividad de pequeños y medianos productores de leche de la Asociación de Cooperativas lecheras de Guatavita ASOLEGA. (Datos sin publicar).*
- John, E.E., Nekouei, O., McClure, J.T., Cameron, M., Keefe, G. & Stryhn, H. (2018). Investigation of within- and between-herd variability of bovine leukaemia virus bulk tank milk antibody levels over different sampling intervals in the Canadian Maritimes. *Preventive veterinary medicine*, 154, 90-94. doi:10.1016/j.prevetmed.2018.03.015
- Kenny, D., Humpherson, P., Leese, H., Morris, D., Tomos, A., Diskin, M. & Sreenan, J. (2002). Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. *Biology of reproduction*, 66(6), 1797-1804.
- Khafipour, E., Krause, D. & Plaizier, J. (2009). Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. *Journal of dairy science*, 92(4), 1712-1724.
- Kitkas, G., Valergakis, G., Karatzias, H. & Panousis, N. (2013). Subacute ruminal acidosis: prevalence and risk factors in Greek dairy herds. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(3), 183-189.
- Kohn, R.A., Kalscheur, K.F. & Russek-Cohen, E. (2002). Evaluation of Models to Estimate Urinary Nitrogen and Expected Milk Urea Nitrogen1. *Journal of dairy science*, 85(1), 227-233. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74071-X
- Laeger, T., Metges, C.C. & Kuhla, B. (2010). Role of β -hydroxybutyric acid in the central regulation of energy balance. *Appetite*, 54(3), 450-455. doi:10.1016/j.appet.2010.04.005



- Lanyon, S., McCoy, R., Bergman, E. & Reichel, M. (2014). Milk as a diagnostic sample for a commercially available ELISA to identify bovine viral diarrhoea (BVD) antibodies in dairy herds. *Australian veterinary journal*, 92(7), 269-273.
- 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. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6
- Leroy, J., Van Soom, A., Opsomer, G., Goovaerts, I. & Bols, P. (2008). Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part II mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reproduction in domestic animals*, 43(5), 623-632.
- Lindberg, A. L. & Alenius, S. (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Journal of Veterinary microbiology*, 64(2-3), 197-222.
- Lucy, M., Butler, S. & Garverick, H. (2014). Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and foetal development in dairy cows. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 8(s1), 82-90.
- McArt, J.A.A., Nydam, D.V., Oetzel, G.R., Overton, T.R. & Ospina, P.A. (2013). Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 198(3), 560-570. doi:10.1016/j.tvjl.2013.08.011
- McCarthy, C., Höglund, J., Christley, R., Juremalm, M., Kozlova, I., Smith, R. & van Dijk, J. (2019). A novel pooled milk test strategy for the herd level diagnosis of *Dictyocaulus viviparus*. *Veterinary Parasitology: X*, 1, 100008. doi:10.1016/j.vpoa.2019.100008
- McGiven, J.A., Tucker, J.D., Perrett, L.L., Stack, J.A., Brew, S.D. & MacMillan, A.P. (2003). Validation of FPA and cELISA for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in cattle sera and comparison to SAT, CFT, and iELISA. *Journal of Immunological Methods*, 278(1), 171-178. doi:10.1016/S0022-1759(03)00201-1
- Melendez, P., Donovan, A., Hernandez, J., Bartolome, J., Risco, C.A., Staples, C. & Thatcher, W.W. (2003). Milk, plasma, and blood urea nitrogen concentrations, dietary protein, and fertility in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(5), 628-634. doi:10.2460/javma.2003.223.628
- Miyama, T., Watanabe, E., Ogata, Y., Urushiyama, Y., Kawahara, N. & Makita, K. (2018). Herd-level risk factors associated with *Leptospira Hardjo* infection in dairy herds in the



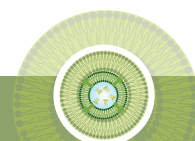
- southern Tohoku, Japan. *Preventive veterinary medicine*, 149, 15-20. doi:10.1016/j.prevetmed.2017.11.008
- Muratore, E., Bertolotti, L., Nogarol, C., Caruso, C., Lucchese, L., Iotti, B. et al. (2017). Surveillance of Infectious Bovine Rhinotracheitis in marker-vaccinated dairy herds: Application of a recombinant gE ELISA on bulk milk samples. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 185, 1-6. doi:10.1016/j.vetimm.2017.01.003
- Nekouei, O., Stryhn, H., VanLeeuwen, J., Kelton, D., Hanna, P. & Keefe, G. (2015). Predicting within-herd prevalence of infection with bovine leukemia virus using bulk-tank milk antibody levels. *Preventive veterinary medicine*, 122(1-2), 53-60. doi:10.1016/j.prevetmed.2015.10.009
- Nielsen, K. & Gall, D. (2001). Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review. *Journal of Immunoassay & Immunochemistry*, 22(3), 183-201.
- Nielsen, K., Smith, P., Gall, D., Perez, B., Cosma, C., Mueller, P. et al. (1996). Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in milk. *Veterinary Microbiology*, 52(1), 165-173. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(96\)00059-4](https://doi.org/10.1016/0378-1135(96)00059-4)
- Nousiainen, J., Shingfield, K.J. & Huhtanen, P. (2004). Evaluation of Milk Urea Nitrogen as a Diagnostic of Protein Feeding. *Journal of dairy science*, 87(2), 386-398. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73178-1
- O'Doherty, E., Berry, D.P., O'Grady, L. & Sayers, R. (2014). Management practices as risk factors for the presence of bulk milk antibodies to *Salmonella*, *Neospora caninum* and *Leptospira interrogans serovar hardjo* in Irish dairy herds. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 8(6), 1010-1019. doi:10.1017/S175173111400055X
- Oetzel, G.R. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20(3), 651-674. doi:10.1016/j.cvfa.2004.06.006
- Oetzel, G.R. (2007). *Subacute ruminal acidosis in dairy herds: physiology, pathophysiology, milk fat responses, and nutritional management*. Paper presented at the 40th Annual Conference, American Association of Bovine Practitioners.
- Ospina, P., Nydam, D., Stokol, T. & Overton, T. (2010). Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of dairy science*, 93(4), 1596-1603.



- Peter, A. (2000). Abortions in dairy cows: new insights and economic impact. Proceedings of Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, Alberta, Canada. *J Advanced Dairy Technology*, 12, 233-244.
- Plaizier, J.C., Krause, D.O., Gozho, G.N. & McBride, B. W. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary journal*, 176(1), 21-31. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.016
- Pritchard, G. (2001). Milk antibody testing in cattle. *In Practice*, 23(9), 542. doi:10.1136/inpract.23.9.542
- Raaperi, K., Orro, T. & Viltrop, A. (2014). Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *The Veterinary Journal*, 201(3), 249-256. doi:10.1016/j.tvjl.2014.05.040
- Reber, A., Reist, M. & Schwermer, H. (2012). Cost-effectiveness of bulk-tank milk testing for surveys to demonstrate freedom from infectious bovine rhinotracheitis and bovine enzootic leucosis in Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 154(5), 189.
- Reichel, M.P., Lanyon, S.R. & Hill, F.I. (2016). Moving past serology: Diagnostic options without serum. *The Veterinary Journal*, 215, 76-81. doi:10.1016/j.tvjl.2016.04.010
- Renaud, D.L., Kelton, D.F. & Duffield, T.F. (2019). Short communication: Validation of a test-day milk test for beta-hydroxybutyrate for identifying cows with hyperketonemia. *Journal of dairy science*, 102(2), 1589-1593. doi:10.3168/jds.2018-14778
- Rhoads, M.L., Gilbert, R.O., Lucy, M.C. & Butler, W.R. (2004). Effects of Urea Infusion on the Uterine Luminal Environment of Dairy Cows. *Journal of dairy science*, 87(9), 2896-2901. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73420-7
- Rotolo, M.L., Main, R.G. & Zimmerman, J.J. (2018). Herd-level infectious disease surveillance of livestock populations using aggregate samples. *Animal Health Research Reviews*, 19(1), 53-64. doi:10.1017/S1466252318000038
- Sayers, R., Byrne, N., O'Doherty, E. & Arkins, S. (2015). Prevalence of exposure to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) in Irish dairy herds. *Journal of research in veterinary science*, 100, 21-30.
- Sayers, R.G., Sayers, G.P., Graham, D.A. & Arkins, S. (2015). Impact of three inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines on bulk milk p80 (NS3) ELISA test results in dairy herds. *Veterinary journal*, 205(1), 56-61. doi:10.1016/j.tvjl.2015.03.025
- Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S. & Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530.



- Shingfield, K.J., Jokela, M. & Kaustell, K. (1999). Association between protein feeding and reproductive efficiency in the dairy cow: specific emphasis on protein feeding in Finland. *Agricultural and Food Science*, 8(4-5). doi:10.23986/afsci.5636
- Siachos, N., Panousis, N. & Valergakis, G.E. (2019). Association of bulk tank milk urea nitrogen concentration with elevated individual cow values and investigation of sampling frequency for accurate assessment. *Tropical Animal Health and Production*, 51(8), 2431-2436. doi:10.1007/s11250-019-01959-2
- Sordillo, L.M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of dairy science*, 99(6), 4967-4982. doi:10.3168/jds.2015-10354
- Tatone, E.H., Gordon, J.L., Hubbs, J., LeBlanc, S.J., DeVries, T.J. & Duffield, T. (2016). A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of point-of-care tests for the detection of hyperketonemia in dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, 130, 18-32.
- Taylor, R.F. & Njaa, B.L. (2012). General Approach to Fetal and Neonatal Loss. In: Taylor, R.F. & Njaa, B.L. (Ed.), *Kirkbride's Diagnosis of Abortion and Neonatal Loss in Animals*. (4th ed., pp. 1-12). New Jersey: Wiley-Blackwell, USA.
- Toni, F., Vincenti, L., Grigoletto, L., Ricci, A. & Schukken, Y. H. (2011). Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. *Journal of dairy science*, 94(4), 1772-1783. doi:10.3168/jds.2010-3389
- Valle, P.S., Wayne Martin, S. & Skjerve, E. (2001). A Bayesian approach to estimating the performance of a bovine virus diarrhoea virus (BVDV) antibody ELISA bulk-tank milk test. *Preventive veterinary medicine*, 50(1), 71-87. doi:10.1016/S0167-5877(01)00221-5
- Van Winden, S. & Pfeiffer, D. (2008). Sampling programmes to establish and monitor the infectious disease status of cattle herds. *In Practice*, 30(1), 30. doi:10.1136/inpract.30.1.30
- Van Wuijckhuise, L., Bosch, J., Franken, P., Frankena, K. & Elbers, A.R. (1998). Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds. *The Veterinary record*, 142(8), 181-184. doi:10.1136/vr.142.8.181
- Velasova, M., Damaso, A., Prakashbabu, B.C., Gibbons, J., Wheelhouse, N., Longbottom, D. et al. (2017). Herd-level prevalence of selected endemic infectious diseases of dairy cows in Great Britain. *Journal of dairy science*, 100(11), 9215-9233.



- Vergara-Galván, M. A. (2019). *Dinámica de anticuerpos y factores de riesgo para DVB, IBR, Leptospira y Neospora en muestras de leche de hatos de la provincia de Ubaté*. (Magister en Salud Animal), Universidad Nacional de Colombia.
- Westwood, C., Lean, I. & Kellaway, R.C. (1998). Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 1. Dietary protein sources and metabolism. *New Zealand veterinary journal*, 46(3), 87-96.
- Westwood, C., Lean, I. & Kellaway, R.C. (1998). Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 2. Effect of dietary protein on reproductive performance. *New Zealand veterinary journal*, 46(4), 123-130.
- Zambrano-Varón, J.L., González-Arenas, D.J., Vergara-Galván, M.A. & Jiménez-Escobar, C. (2018). *Informe proyecto "Innovación ciencia y tecnología para los productores de leche en la provincia de Ubaté - Cundinamarca"*. Seguimiento Reproductivo. Gobernación de Cundinamarca - Secretaria de Ciencia Tecnología e Innovación (Datos sin publicar).
- Zambrano-Varon, J.L. & Thurmond, M.C. (2009). Epidemiologic Approaches for Measuring and Understanding Bovine Abortion. *Rev. Med. vet. Zoot.*, 56(3), 18 -39.
- Zambrano-Varon, J.L. (2014). Interpretación del diagnóstico Serológico de Leptospirosis asociado a problemas reproductivos en Hatos Bovinos. *Rev Acovez*, 41(3), 29,33.

Este libro tiene como propósito presentar la correcta interpretación tanto de los balances económicos de la producción de leche, como de los resultados de laboratorio y el uso de estas herramientas para controlar el hato. Esperamos que los ejercicios e intervenciones que se proponen en los diferentes capítulos del libro contribuyan a mejorar los enfoques hacia la productividad y las labores empresariales de técnicos y productores.