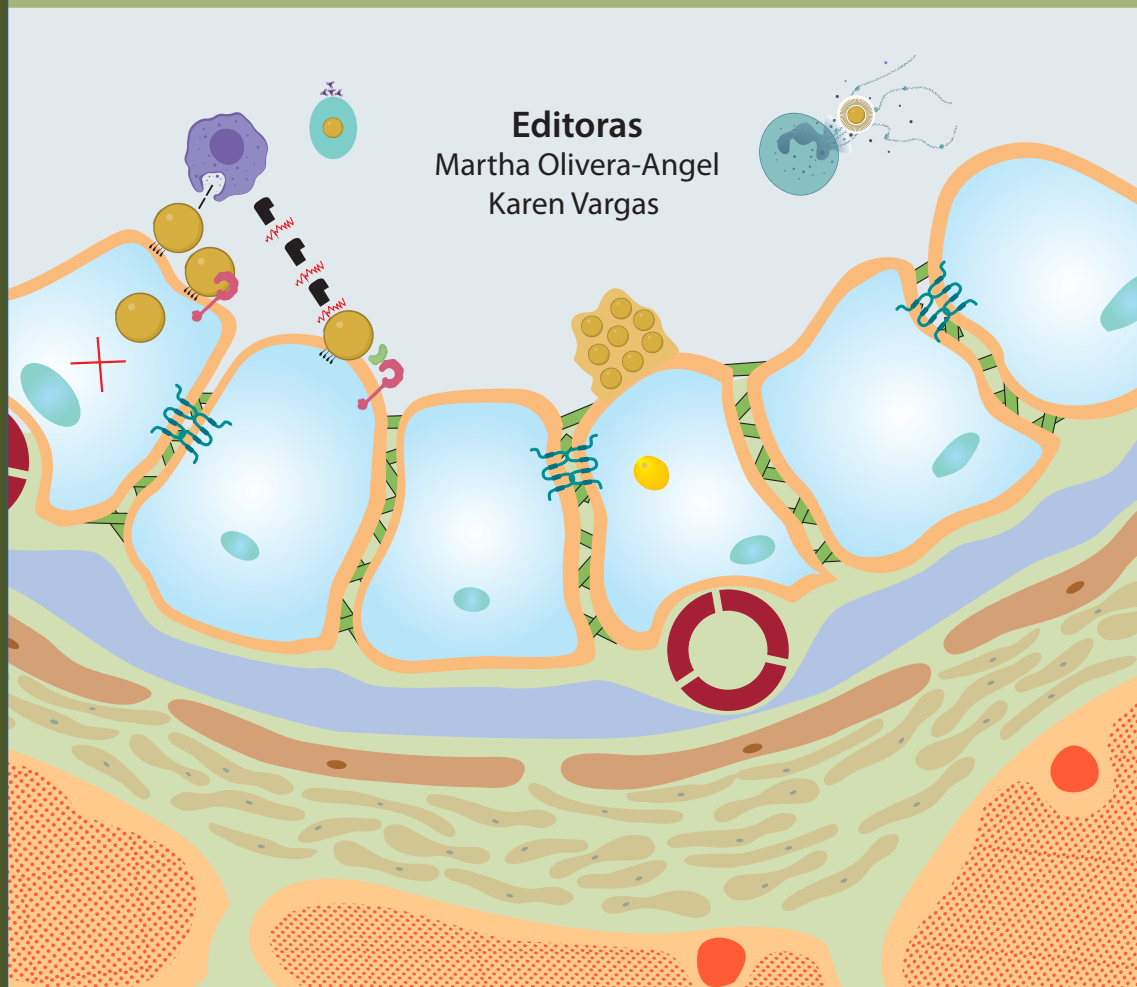


La lactancia

vista desde múltiples enfoques

Segunda parte: métodos, interpretación
de resultados y costos de producción de leche



Editoras

Martha Olivera-Angel

Karen Vargas

Ciencias Biológicas y Ciencias Animales



UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA

Facultad de Ciencias Agrarias



La lactancia vista desde múltiples enfoques

Segunda parte: métodos,
interpretación de resultados
y costos de producción de leche



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA**

Facultad de Ciencias Agrarias



Primera edición: enero de 2021
ISBNe: 978-958-5157-31-6

Editoras

Martha Olivera-Angel
Karen Vargas

Autores

Andres Felipe Usuga, MV, MSc.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

Tatiana Ortiz, Zoot.
Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad
de Antioquia.

Junnier Felipe Usuga, Ing. Forestal.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

Luis Guillermo Palacio, MV, MSc, Dr. Sci.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

Karen Vargas, MyB, MSc.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

Juana Vidal, MyB, MSc.
Grupo de Investigación Biogénesis, Unidad
de Diagnóstico. Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad de Antioquia.

Iván Cifuentes, MV.
Asesor independiente.



Este obra está bajo una licencia
de Creative Commons Reconocimiento- No
Comercial-Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.



Carrera 75 # 65-87;
Teléfonos: (574) 219 91 76 - 219 91 77
Medellín, Colombia

Dursun Barrios, Adm. Emp., Zoot, MSc, Dr. Sci
Grupo de investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de
Colombia.

Oscar Felipe Huertas-Molina, MVZ, Esp, MSc.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia;
Corporación Colombiana de Investigación
Agropecuaria - AGROSAVIA. Centro de
Investigación El Nus, Antioquia.

Martha Olivera-Angel, DMV, Dr.Sci.Agr.
Grupo de Investigación Biogénesis. Facultad
de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

Johana Marín, MV, MSc.
Asesora independiente.

Jorge Gallo, Zoot, Esp.
Director de Investigación y Desarrollo en
Suplementos Alternativos SAS, Medellín,
Colombia.

Jorge Zambrano, DVM, MPVM, PhD, Dipl ACT.
Grupo de Reproducción Animal y Salud
de Hato. Facultad de Medicina Veterinaria
y de Zootecnia, Universidad Nacional
de Colombia.

Corrección de texto
Ari Vélez

Diseño y diagramación
Sandra María Arango,
Oficio Gráfico.

Ilustración de la portada

Mecanismos que emplean las bacterias para
evadir o retrasar su reconocimiento por parte
del sistema inmune.

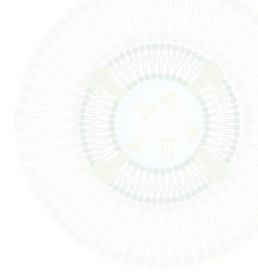
En: La lactancia vista desde múltiples enfoques,
Tomo 1



Página Web

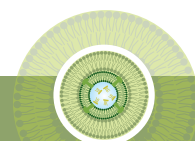


Facebook

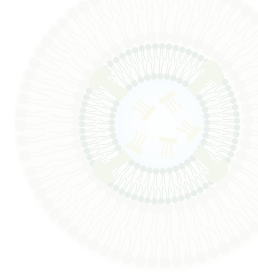


Contenido

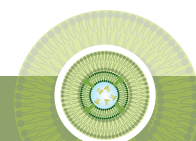
Prefacio	7
I. La salud de hato y su implicación económica en la producción de leche.....	9
1. Introducción.....	9
2. Consideraciones previas al ejercicio de costeo	11
3. Metodología para el análisis de costos en la producción de leche.....	14
4. Cálculo de las pérdidas por enfermedad de la glándula mamaria.....	24
5. Caso de estudio.....	25
Bibliografía.....	27
II. Toma de muestra de leche de la glándula mamaria para cultivo bacteriológico.....	29
1. Introducción.....	29
2. Fuentes de toma de muestras de leche para cultivo y antibiograma	30
3. Toma de muestra para cultivo de leche	32
Bibliografía.....	43
III. Paso a paso para la caracterización fenotípica y genotípica de bacterias que con frecuencia causan infección intramamaria.....	45
1. Introducción.....	45
2. Identificación fenotípica de bacterias patógenas en leche	46



2.1 Identificación y genotipificación de bacterias aisladas	47
2.1.1 PCR	50
2.1.2 Rep-PCR	52
2.1.3 Tipificación de <i>Staphylococcus aureus</i> por el gen que codifica proteína estafilocócica A (spa)	53
Bibliografía	57
IV. Árbol de decisiones para interpretar y controlar la mastitis en el hato	61
1. Introducción	61
2. Evaluación de la mastitis subclínica y toma de decisiones	63
Bibliografía	67
V. Evaluación de los tenores de grasa y proteína en la leche	69
1. Introducción	69
2. Interpretación de los resultados de grasa	70
3. Cómo modificar los porcentajes de grasa en leche	73
4. Interpretación de los resultados de proteína	74
5. Cómo elevar la concentración de proteína en la leche	76
Bibliografía	77
VI. Hiperкетонемия y la evaluación de los niveles de Beta-hidroxibutirato (BHB) y Acetona (Ac) en leche	79
1. Introducción	79
2. Medición de BHB y Ac	81
3. Factores de riesgo asociados a concentraciones altas de BHB o Ac en leche	87
4. Acciones que se deben tomar con niveles en hato superiores a los normales	88
Bibliografía	89



VII. Uso de muestras de leche como indicador de salud y para la vigilancia de enfermedades en el hato.....	93
1. Introducción.....	93
2. Estrategias de vigilancia epidemiológica de enfermedades infecciosas	94
2.1. Establecer el nivel de exposición y presencia de patógenos en una población	98
2.2. Vigilancia epidemiológica y clasificación de los hatos.....	101
2.3. Prevalencia de hatos expuestos – nivel regional.....	103
2.4. Estudios de Factores de Riesgo – Programas de control y prevención.....	105
3. Enfermedades metabólicas: interpretación de pruebas de diagnóstico en leche.....	107
3.1. Trastornos metabólicos y de salud de origen nutricional.....	108
3.2. Relación grasa/proteína (G/P)	109
3.3. Nitrógeno Ureico en leche (MUN).....	112
4. Consideraciones generales del muestreo para el seguimiento epidemiológico de las enfermedades infecciosas y metabólicas: calidad, frecuencia y conservación	116
5. Conclusiones.....	118
Bibliografía.....	119



La lactancia vista desde múltiples enfoques. Segunda parte: métodos, interpretación de resultados y costos de producción de leche.

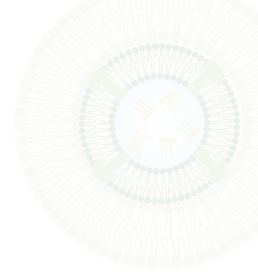
Martha Olivera-Angel y Karen Vargas (Editoras)

Fondo Editorial Biogénesis

Número de páginas: 128

ISBNe: 978-958-5157-31-6

Prefacio. La salud de hato y su implicación económica en la producción de leche. Toma de muestra de leche de la glándula mamaria para cultivo bacteriológico. Paso a paso para la caracterización fenotípica y genotípica de bacterias que con frecuencia causan infección intramamaria. Árbol de decisiones para interpretar y controlar la mastitis en el hato. Evaluación de los tenores de grasa y proteína en la leche. Hipercetonemia y la evaluación de los niveles de Beta-hidroxibutirato (BHB) y Acetona (Ac) en leche. Uso de muestras de leche como indicador de salud y para la vigilancia de enfermedades en el hato.



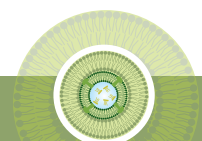
Prefacio

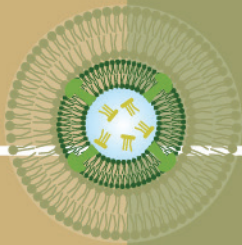
Este libro está dirigido a profesionales y productores que trabajan en la cadena láctea, así como a la comunidad agropecuaria interesada en los temas que afectan la economía y la salud en la producción de leche. Tiene como propósito presentar la correcta interpretación de los balances económicos de la producción de leche y de los resultados de laboratorio, y mostrar cómo hacer un uso adecuado de esta información para controlar el hato. Esperamos que los ejercicios e intervenciones que se proponen en los diferentes capítulos del libro contribuyan a mejorar la productividad y la labor empresarial de los productores.

En los diferentes capítulos se presentan propuestas metodológicas para calcular los costos de un litro de leche y cuantificar el impacto de los problemas asociados con la sanidad del hato. Se abordan temas como la mastitis y algunas aproximaciones para su control; el pago de leche por parámetros de calidad y las enfermedades que afectan tales parámetros, y el uso de la leche para evaluar la salud metabólica e infecciosa del hato. También se ilustra la forma en que los análisis de laboratorio, basados en el control lechero o en muestras de leche para pago, son una herramienta eficaz y barata para la toma de decisiones que aseguren un máximo beneficio económico.

Esperamos que este libro sea una guía sencilla y directa para el manejo de la producción lechera a partir del uso de datos generados en la finca y en el laboratorio. Con ello queremos contribuir al establecimiento de bases claras para afrontar las dificultades que se pueden presentar en los hatos.

Puede encontrar los anexos de los capítulos III y IV en la página web de la editorial: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/issue/view/3761>





Capítulo

1

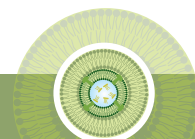
La salud de hato y su implicación económica en la producción de leche

D. Barrios¹ Adm. Emp., Zoot, MSc, Dr. Sci

1. Introducción

El sector agropecuario colombiano, a pesar de tener aspectos por mejorar en términos de organización, productividad y competitividad, cuenta con gran potencial económico y productivo para atraer la inversión, implementar desarrollos tecnológicos y convertirse en una despensa agrícola latinoamericana (Villanueva-Mejía, 2018).

1. Universidad Nacional de Colombia-sede Bogotá, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Desarrollo Rural y Agroalimentario, Grupo de Investigación Biogénesis, dbarrio@unal.edu.co

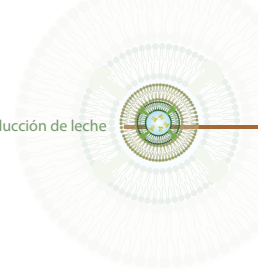


En las últimas décadas, la política comercial colombiana se ha orientado hacia una mayor integración con la economía global como estrategia para el crecimiento económico (Castro-Hernández y Carvajal, 2020). Las condiciones actuales de introducción de Colombia en nuevos mercados internacionales promueven que el sector agropecuario en general, así como renglones específicos de la producción agropecuaria como lo es la leche, sea cada vez más competitivo (Vásquez-Jaramillo, Barrios y Cerón-Muñoz, 2018).

El nivel de intensificación en sistemas de producción bovina de leche está relacionado con un mayor grado de confinamiento y con la concentración de la producción en un área menor (Ruiz, Cerón-Muñoz, Barahona-Rosales y Bolívar-Vergara, 2019). Lo anterior hace que esta actividad exija acompañamiento y rastreo institucional, así como armonía tecnológica y sostenible en una productividad racional donde se combinen sistemas adaptados al medio colombiano (Toro, 2011).

Los resultados de rastreos realizados en el país han mostrado que los problemas de salud del hato son una de las mayores causas de las pérdidas económicas del negocio lechero (Barrios y Duque, 2012). Esto se debe, por una parte, a que la salud de un hato puede estar afectada por diversas patologías que de una u otra forma perjudican los indicadores productivos y reproductivos; por otra parte, a los costos asociados a medicamentos, honorarios veterinarios o, en casos más extremos, descarte de animales improductivos.

A continuación se presenta una propuesta metodológica para el cálculo del costo de un litro de leche y la cuantificación del impacto económico de las bajas en producción causadas por problemas asociados a la sanidad del hato.



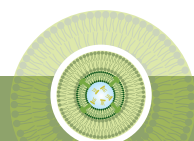
2. Consideraciones previas al ejercicio de costeo

¿Cuál es el producto a costear?

Si bien pareciera innecesario hacerse esta pregunta, en ocasiones la falta de claridad sobre el objetivo de costeo genera inconsistencias en el manejo de la información contemplada en el análisis. No debe perderse de vista que el ejercicio de costeo consiste en calcular cuánto cuesta producir un litro de leche y, por lo tanto, solo se deberán considerar los recursos utilizados para generar este producto. Otros elementos, como alimentación y plan sanitario de terneras y novillas, no están relacionados con el objetivo de producir leche en el periodo que se está analizando, pues se tratan de la generación de un producto distinto (en este caso una novilla de vientre), razón por la cual deberán ser excluidos de este análisis y costearse por separado.

Definición del periodo de costeo

Todo ejercicio de costeo debe responder a un periodo de operaciones (producción y venta del producto generado). Es posible costear periodos de cualquier duración (mes, semestre, año, entre otros), pero es recomendable que el periodo seleccionado sea lo suficientemente largo como para que incluya, al menos, un ciclo completo de producción bajo distintas condiciones que puedan presentarse a lo largo del análisis, contemplando por ejemplo variaciones en el mercado o el ambiente. Seleccionar un periodo corto para calcular los costos de producción, si bien puede ofrecer ventajas en la recolección y manejo de la información, no garantiza que el resultado represente el costo bajo las condiciones promedio del sistema de producción, lo que puede inducir a la toma de decisiones equivocadas.



Proceso productivo

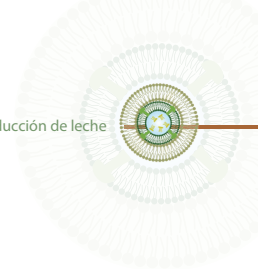
Se conoce como proceso productivo al conjunto de actividades necesarias para transformar elementos de entrada (insumos), en elementos de salida (productos terminados). En este caso el proceso productivo es la producción de leche. La clara diferenciación de la frontera de producción, que contempla cuándo inicia y cuándo termina el proceso productivo, permite clasificar los costos totales según su función e identificar cuáles son los costos de producción y cuáles constituyen los gastos operacionales.

La correcta clasificación de los costos totales en costos de producción y gastos operacionales permitirá realizar un mayor control de los recursos utilizados. Esto es importante pues es precisamente en el proceso productivo donde el productor puede incidir en la productividad por medio de intervenciones de tipo técnico, lo que se traduce en una mayor rentabilidad del sistema.

Costo de producción

El costo de producción es la valoración en unidades monetarias de los recursos que se consumen para producir un litro de leche. Entre los recursos utilizados encontramos alimentos balanceados, suplementos, vacunas, medicamentos, mano de obra, fertilización y servicios públicos, por poner algunos ejemplos.

Un elemento importante a considerar es el hecho que los recursos se convierten en costo solo en el momento en que son consumidos. Por lo tanto, el capital invertido en materiales o insumos que no fueron consumidos durante el periodo costeadado no hace parte del costo de producción, aunque hayan sido adquiridos durante ese periodo.



Conocer el costo de producción permite:

- Identificar cuáles de los productos generados son rentables y cuáles no.
- Establecer si se justifica permanecer en la actividad productiva.
- Evaluar si se es competitivo respecto a los precios de venta que establece el mercado.

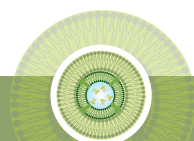
Gasto operacional

Se conoce como gasto la valoración de los recursos que, si bien son necesarios para la operación normal del negocio, no participan en el proceso productivo. Son ejemplos de este tipo de gasto los salarios administrativos, impuestos, intereses causados por financiación de deudas, la contratación de asesorías o consultorías, los arrendamientos de oficinas o instalaciones relacionadas con los procesos administrativos, fletes de leche, entre otros. Una clasificación detallada de estos gastos podría generar, entre otras, las siguientes categorías de gastos: administrativos, de distribución y venta, generales, financieros y tributarios.

Costo total

Agrupar la sumatoria de los costos de producción y los gastos operacionales. Engloba la valoración del total de los recursos que fueron utilizados para producir y poner en el mercado la leche generada.

Es necesario contemplar que a la gestión de costos aplica el principio contable de la causación. Por lo tanto, la valoración del costo total incluye todos aquellos elementos que fueron causados o utilizados durante el periodo costado, sin importar si fueron efectivamente pagados o no a sus proveedores durante el periodo analizado.



3. Metodología para el análisis de costos en la producción de leche

A continuación se definen los pasos a seguir para llevar a cabo el proceso de costeo en sistemas de producción especializada de leche.

1. Identificar el periodo que se desea costear

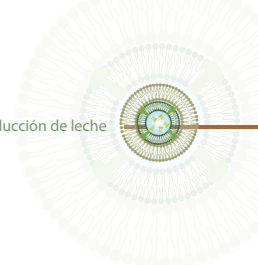
Como se explicó anteriormente, es necesario definir un periodo lo suficientemente largo para que se puedan incluir las variaciones en los niveles de producción derivadas de los cambios en las épocas climáticas o la disponibilidad de forraje, entre otros. En sistemas de producción de leche es recomendable llevar a cabo el proceso de costeo para periodos de un año, de manera que los resultados sean lo más próximos a un valor promedio para el sistema analizado.

2. Definir qué recursos son utilizados dentro del proceso de producción

Cuando se desea estructurar los costos en producción de leche, es necesario identificar los recursos utilizados con base en la información contenida en los registros productivos y contables. También se deben identificar las características técnicas del sistema de producción y su nivel tecnológico, pues estas suelen generar diferencias en los costos entre sistemas de producción dedicados a la misma actividad, incluso cuando están ubicados en zonas geográficas similares.

Estos recursos se clasifican en los siguientes grupos:

- **Materiales y materias primas:** son los elementos que se consumen periódicamente en el desarrollo de la actividad productiva con el objetivo



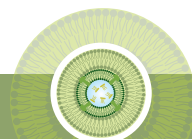
de producir la leche. Se define como materias primas aquellos elementos que se transforman durante el proceso productivo y se identifican, luego de su transformación, en el producto final. Son ejemplos de materias primas los animales en levante o ceba que se adquieren o generan como insumo para producir animales cebados al final del proceso productivo.

Como puede observarse, a pesar de que este grupo genéricamente se denomina materiales y materias, en el proceso específico de la producción de leche, como en otros procesos de producción primaria, no existe ningún elemento que cuente con las características para ser nombrado como materia prima, dado que el producto final es generado por procesos biológicos. Por lo tanto, en la estructura de costos de producción de leche serán contemplados como materiales todos los elementos que se consumen durante el proceso y que están directamente relacionados con la producción de leche.

Los materiales ayudan a la transformación de las materias primas, pero no necesariamente se transforman o identifican en el producto final. Ejemplo de materiales son los alimentos balanceados, suplementos, fertilizantes, insecticidas, medicamentos veterinarios y demás.

- **Mano de obra:** los desembolsos relacionados con el capital humano que desempeña una labor o actividad dentro del proceso productivo. Su valoración contempla el salario, incluyendo bonificaciones y recargos por trabajo complementario como horas extras o dominicales y festivos, así como la seguridad social, las prestaciones sociales, vacaciones y aportes parafiscales.

Es importante tener en cuenta que, en el cálculo del costo de producción, los costos salariales incluyen todos los pagos que se hacen al per-



sonal, inclusive las retribuciones en especie como habitación, alimentación o productos terminados como la leche.

- **Bienes duraderos:** también denominados activos fijos, son los bienes de la empresa que tienen una duración relativamente larga, es decir que son utilizados durante al menos un ciclo de producción completo y que fueron adquiridos para utilizarse en la actividad productiva, por lo que no serán revendidos en el corto plazo.

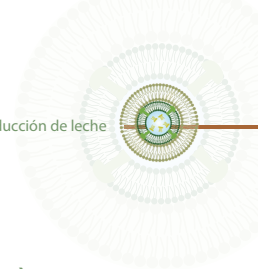
Los bienes duraderos más comunes en ganadería son:

- **Físicos:** maquinaria, equipos, construcciones e instalaciones, vehículos, entre otros.
- **Biológicos:** animales reproductivos o de trabajo como vacas de cría, toros reproductores, bueyes o mulas para trabajo de carga o arado. Otros activos fijos biológicos pueden ser los cultivos perennes como pastos de corte o forrajes.

Nótese que los animales en levante o ceba no hacen parte de los bienes duraderos, debido a que representan el producto que está en transformación y, por lo tanto, son vendidos como producto final al terminar el ciclo productivo.

Los costos generados por los bienes duraderos son el mantenimiento y la depreciación (referido al costo generado por los activos físicos) o amortización (cuando el activo del que se trata es un bien biológico).

- **Servicios de terceros:** incluye los costos generados por la utilización de servicios que no produce la unidad productiva y que por lo tanto deben ser adquiridos o contratados con externos. Son ejemplos de servicios de terceros el pago de arrendamientos, fletes, servicios públicos y asesorías técnicas o veterinarias, entre otros.



3. Identificar las cantidades y valorar (en unidades monetarias) los recursos utilizados durante el periodo.

En este punto es importante notar que las cantidades y los precios de adquisición de los bienes y servicios utilizados se tabulan y analizan con valores promedio. Lo anterior debido a que normalmente, durante el periodo analizado, hay fluctuaciones derivadas del comportamiento de las fuerzas de mercado, los tipos de cambio y otras variables.

- **Materiales:** es necesario determinar qué cantidad de materiales fueron destinados al proceso de producción durante el periodo analizado. Para ello, es útil estructurar la información como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Cálculo del costo de materiales consumidos por periodo

Fecha de consumo	Unidad de medida	Valor comercial*	Cantidad consumida	Costo de lo consumido**	Observación

*Estos valores dependen del método de valoración de inventarios utilizado, aunque es común el uso del precio promedio del mercado.

**Costo materiales (\$/periodo) = Cantidad consumida x precio promedio de compra.

Fuente: elaboración propia.

- **Mano de obra:** el costo por concepto de mano de obra corresponde a los pagos efectuados por salarios en efectivo o en especie, más los desembolsos por concepto de prestaciones sociales, seguridad social, vacaciones y aportes parafiscales si los hubiere (Tabla 2).

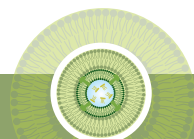


Tabla 2. Costos salariales

Empleado	Salario		Bonificación	Prestaciones sociales	Vacaciones	Parafiscales	Total
	Efectivo	Especie					

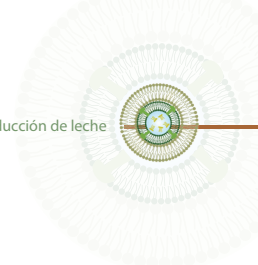
Fuente: elaboración propia.

- **Bienes duraderos:** recordemos que los costos generados por los bienes duraderos son la depreciación y el mantenimiento.

El costo por depreciación generado por los activos fijos representa la pérdida de valor por uso, desuso u obsolescencia que sufren los bienes duraderos con el transcurso del tiempo. El método más común para calcular la depreciación es llamado “línea recta” y se calcula dividiendo el valor del activo a depreciar (valor de adquisición) por la vida útil expresada en unidad de tiempo (años, meses, semestres), dependiendo del periodo que se quiera costear, así:

$$\text{Depreciación} \left(\frac{\$}{\text{periodo}} \right) = \frac{\text{Valor inicial del activo} (\$)}{\text{Valor útil (unidad de tiempo)}}$$

Si se trata de un activo biológico, como por ejemplo las vacas de producción, el valor inicial se calcula a precios de mercado para un semoviente de iguales condiciones. Sin embargo, para un cálculo más riguroso y acorde con las condiciones específicas del sistema que se está costeando, se recomienda que este valor sea estimado a través de la sumatoria de los costos incurridos en el levante de la novilla, desde su nacimiento hasta que esta se considera apta para entrar a servicio. En el caso de la



vida útil, esta deberá representar el valor promedio (número de lactancias) de vida productiva (excluyendo el periodo de levante) que tienen las vacas al interior de la granja objeto de análisis.

Respecto al mantenimiento (labores culturales), este costo representa los desembolsos realizados para mantener la operación normal del activo durante el periodo a costear. En la producción de leche es común encontrar mantenimiento de equipos de ordeño, tanque de enfriamiento, planes sanitarios, control de malezas y otras labores culturales realizadas a los activos biológicos como vacas, novillas, toros o pasturas. Sin embargo, es importante considerar que cuando se tienen activos fijos biológicos, el mantenimiento usualmente se lleva directamente a la estructura de costos con su respectiva denominación, es decir, no se tabulan bajo el nombre mantenimiento. Los costos por depreciación y mantenimiento se tabulan como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Costo por uso de activos fijos

Bien duradero	Cantidad (unidades)	Valor comercial unitario (\$)	Valor total (\$)	Vida útil (periodos)	Depreciación (\$/periodo)	Mantenimiento (\$/periodo)

Fuente: elaboración propia.

- **Servicios prestados por terceros:** es necesario controlar la cantidad, periodicidad y costo de los servicios recibidos de terceros durante el periodo (ver Tabla 4).

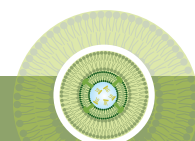


Tabla 4. Costos de los servicios prestados de terceros

Fecha	Concepto	Unidad de medida	Valor
Total de costo de servicios de terceros			

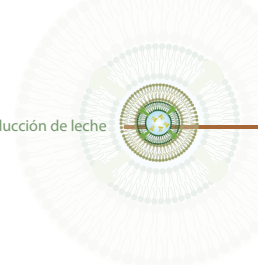
Fuente: elaboración propia.

4. Clasificar el comportamiento de los costos

Al analizar los costos de producción en un negocio, es importante conocer el impacto que estos generan en las utilidades ante escenarios de incertidumbre y disminución en el nivel de ventas. Para ello es útil la clasificación del comportamiento de los costos:

- **Costos fijos:** son los costos que permanecen constantes respecto a las cantidades consumidas, sin importar el nivel de producción y ventas con que la empresa opere. Cuando se tiene una proporción importante de costos fijos, existe un mayor riesgo sobre las utilidades dada una posible disminución futura en las ventas. Ejemplos de costos fijos son los arrendamientos, impuesto predial, depreciaciones, mano de obra vinculada, vacunas y planes sanitarios en vacas o toros reproductores, entre otros.
- **Costos variables:** en este grupo se incluyen aquellos recursos cuyas cantidades consumidas cambian en función de las oscilaciones que sufren las ventas. Es decir, si las ventas caen, el consumo de estos recursos también disminuye. Entre estos se incluyen los fletes de leche, vacunación y alimentación de novillas de levante, entre otros.

Nótese que algunos elementos de costo, como las vacunas, pueden representar costos fijos en un proceso y costos variables en otro,



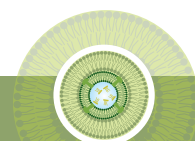
debido a que el producto generado en cada proceso es distinto. En este caso, mientras las vacunas de vacas y toros son independientes de la cantidad de leche producida, y por lo tanto consideradas como costos fijos, en el levante de animales este costo varía en función del número de novillas que haya durante el periodo analizado, razón por la cual se considera un costo variable.

- **Costos mixtos:** estos son los costos que, simultáneamente, presentan una fracción fija y una variable. Un ejemplo de costo mixto es el alimento balanceado en vacas lecheras, del cual una parte se destina para mantenimiento y otra para reproducción y lactancia. Lo ideal es separar ambas fracciones y ubicarlas en el grupo de fijos o variables según corresponda.

5. Elaborar la estructura de costos

La forma de presentar la estructura de costos depende de la información disponible y el tipo de análisis que se desee abordar. Si se quiere realizar un análisis de equilibrio, lo cual sería ideal, es común incluir la clasificación de los costos según su comportamiento. Por otro lado, para un mayor control de la ejecución de los recursos, se recomienda incluir también la clasificación de los costos según denominación contable a través de la clasificación de recursos de la siguiente manera:

- Materiales y materias primas
- Mano de obra
- Otros costos: en este grupo se incluyen aquellos elementos de costos que no hacen parte de los dos grupos anteriores. Ejemplos de estos son: arrendamientos, depreciaciones, mantenimiento, asesorías técnicas, impuestos, fletes, entre otros.



En la Tabla 5 se detalla la estructura de costos típica para sistemas de producción de leche.

Tabla 5. Estructura de costos de producción

Grupo	Elemento	Comportamiento	
		Fijo (\$)	Variable (\$)
Materiales			
Mano de obra			
Otros costos			
Subtotal		Costo fijo total de producción (CFTP)	Costo variable total de producción (CVTP)

Fuente: elaboración propia.

Donde

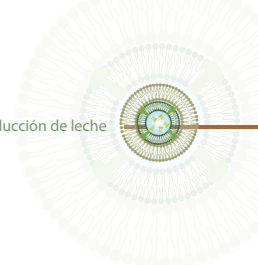
$$\text{Costo total de producción (\$/periodo)} = \text{CFTP} + \text{CVTP}$$

Nótese que hasta ahora únicamente se han tabulado los recursos que se utilizan en el proceso productivo y que se denominan costos de producción. Para un análisis global es necesario estimar también los gastos operacionales del periodo, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Estructura de gastos operacionales

Elemento	Comportamiento	
	Fijo (\$)	Variable (\$)
Subtotal	Gasto fijo total (GTP)	Gasto variable total (GVT)

Fuente: elaboración propia.



Una vez calculados los costos totales de producción (CTP) y los gastos totales (GT), contemplando tanto los fijos como los variables, es posible calcular los costos totales (CT) fijos y variables, así:

Costo fijo total (\$/periodo)=CFTP + GF

Costo variable total (\$/periodo)=CFTP + GV

Costo total (\$/periodo)=CTP + GT Costo total (\$/periodo)=CTP + GT

Costo unitario (\$/litro)=CTP + GT = $\frac{\text{Costo total del periodo}}{\text{Litros de leche producidos por periodo}}$

6. Análisis de equilibrio

Una herramienta de gran utilidad para el productor es el análisis del punto de equilibrio, pues permite conocer con qué cantidad de leche vendida es posible cubrir los costos fijos y variables. Conocer este indicador permite al productor verificar qué tan riesgosa sería la operación de la empresa en caso tal de que las ventas de leche disminuyeran. Además, facilita realizar un control y planificación de la producción en el corto plazo. Para su cálculo es necesario contar con los siguientes datos:

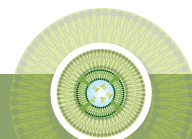
Precio de venta (\$/litro): calculado como valor promedio del precio pagado por la leche para el periodo analizado.

Costo fijo total (\$/periodo): equivale a la suma de los costos fijos totales de producción (CFTP) y los gastos operacionales fijos.

Costo variable unitario (\$/litro): calculado de la siguiente manera:

Costo variable unitario (\$/litro) = $\frac{\text{Costo variable total (CVT) del periodo}}{\text{Litros de leche producidos por periodo}}$

Con ello, es posible calcular el punto de equilibrio, así:



$$\text{Punto de Equilibrio (litros/periodo)} = \frac{\text{Costo fijo total}}{\text{Precio venta} - \text{Costo variable unitario}}$$

Una vez se tenga el punto de equilibrio, el productor podrá planificar la producción en niveles superiores al punto de equilibrio y establecer un control permanente de la producción, de manera que se verifique qué tan alejado se encuentra el nivel de ventas actual de la producción de equilibrio y, por tanto, controlar también las utilidades esperadas.

4. Cálculo de las pérdidas por enfermedad de la glándula mamaria

Una de las principales preocupaciones del productor de leche es conocer qué tanto se afectan los resultados económicos del hato lechero cuando se identifica la presencia de alguna patología en los animales. Podría afirmarse que, en sistemas especializados de leche, dichas enfermedades son causales directas de bajas en la producción, por lo que es fácil identificar cuál sería el impacto de esta situación en las utilidades del negocio.

Lo primero que habría que hacer es calcular el estado económico del hato operando bajo condiciones normales, es decir, sin patologías. Para ello, bastaría con calcular las utilidades dadas las condiciones promedio de operación, así:

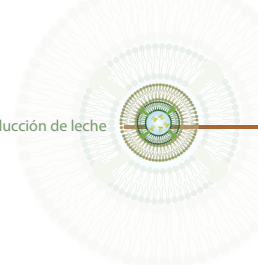
$$\text{Utilidad (\$/periodo)} = [Q * (Pv - Cvu)] - \text{Costo fijo total}$$

Donde:

Q: litros de leche vendidos en el periodo

Pv: precio de venta por litro de leche

Cvu: costo variable unitario



Así, para verificar cuál es el efecto económico de la enfermedad, basta con obtener las nuevas utilidades considerando la baja en producción y venta de leche causada por la patología:

$$\text{Utilidad (\$/periodo)} = [Q \cdot (P_v - C_{vu})] - \text{Costo fijo total}$$

Donde:

Q: litros de leche vendidos en el periodo, considerando la baja en producción derivada de la enfermedad.

Es importante aclarar que la relación costo/volumen/utilidad parte del supuesto de que el análisis se realiza en el corto plazo económico y, por lo tanto, el valor promedio de las variables que no son objeto de análisis, en este caso P_v , C_{vu} y CFT, permanecen constantes.

La ecuación anterior es útil para calcular cuál sería el impacto económico derivado de una modificación en cualquiera de las variables allí involucradas. Así, al igual que con el volumen de ventas, podrían involucrarse cambios en los precios de venta, costos fijos de producción o costos variables unitarios.

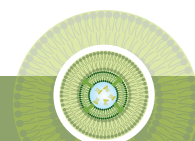
5. Caso de estudio

Se tiene un hato lechero de 25 vacas, su volumen de producción promedio ajustado a 305 días de lactancia es de 15 litros/día. La información contable, para un año de operaciones, se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7. Información contable - caso de estudio

Elemento	Valor
Costo fijo total (incluyendo gastos operacionales)	80 millones
Costo variable unitario (\$/litro)	260
Precio de venta (\$/litro)	1.000
Venta de leche (litros/año)	136.875

Fuente: elaboración propia.



Utilizamos la ecuación de punto de equilibrio para calcular el volumen de venta de leche requerido para cubrir los costos derivados de la operación:

$$\text{Punto de Equilibrio (litros/año)} = \frac{80.000.000}{1.000 - 260} = 108.108$$

Según lo anterior, sería necesario vender 108.108 litros de leche al año para cubrir los costos totales del periodo. En otras palabras, para que el empresario no gane ni pierda dinero, se requiere que en promedio se tenga un volumen de producción de 11.8 litros/vaca/día.

Dado que el nivel de producción actual supera el punto de equilibrio, se puede concluir que la actividad lechera está generando excedentes económicos al productor. Calculamos los excedentes de la siguiente manera:

$$\text{Utilidad (\$/año)} = [136.875 * (1.000 - 260)] - 80.000$$

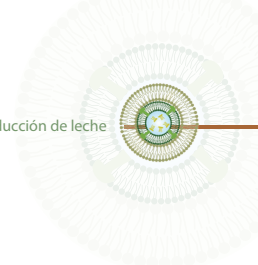
$$\text{Utilidad (\$/año)} = 21.287.500$$

Supongamos que en el siguiente período se ha identificado presencia de mastitis subclínica en el 20% de las vacas. Esto podría representar una disminución en la producción de leche promedio de las vacas afectadas de hasta un 10%. **¿Cuál sería el impacto económico de esta situación?**

Para dar solución a esta pregunta, necesitamos conocer el volumen de producción (Q) en este escenario:

$$Q \left(\frac{\text{litros}}{\text{año}} \right) = [5 \text{ vacas} * 15 \text{ litros/día} * 0,9 * 365 \text{ días}] + [20 \text{ vacas} * 15 \text{ litros/día} * 365 \text{ días}]$$

$$Q \left(\frac{\text{litros}}{\text{año}} \right) = 134.138$$



Manteniendo constantes todas las demás variables, y de acuerdo con la ecuación para el cálculo de las utilidades, la ganancia del productor sería:

$$\text{Utilidad (\$/año)} = [134.138 * (1.000 - 260)] - 80.000.000$$

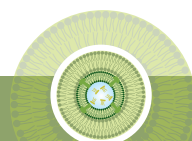
$$\text{Utilidad (\$/año)} = 19.262.120$$

Contemplando únicamente el costo de oportunidad ocasionado por disminución en la producción, se tendría como resultado una disminución del 9,5% en la utilidad del productor de leche. Este valor es relevante si se considera que esta enfermedad trae consigo implicaciones adicionales como el incremento de los costos de producción por tratamientos veterinarios o la disminución en el precio de venta de la leche por pérdida de bonificaciones voluntarias por calidad sanitaria.

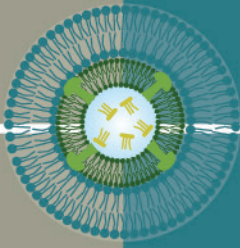
Para calcular las pérdidas, basta con calcular una nueva utilidad. Se debe considerar (i) el incremento en los costos fijos por concepto de medicamentos y honorarios veterinarios y (ii) la disminución del precio de venta de la leche, en una proporción igual a la bonificación voluntaria que se ha dejado de percibir debido al aumento en el recuento de células somáticas en tanque.

Bibliografía

- Barrios D., Restrepo-Escobar F. J. & Ceron-Munoz, M. (2016). Antecedentes sobre gestión tecnológica como estrategia de competitividad en el sector lechero colombiano. *Livestock Research for Rural Development*, 28(125), 1-1.
- Barrios D. & Duque L. (2012). Costo económico por quistes foliculares en vacas lecheras posparto. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(2), 252-257.
- Castro-Hernández, P. & Carvajal, A. (2020). Administración de los procesos de internacionalización aplicables al Departamento de Boyacá. *Revista Estrategia Organizacional*, 9(1).



- Ruiz, J.F., Cerón-Muñoz, M.F., Barahona-Rosales, R. & Bolívar-Vergara, D.M. (2019). Caracterización de los sistemas de producción bovina de leche según el nivel de intensificación y su relación con variables económicas y técnicas asociadas a la sustentabilidad. *Livestock Research for Rural Development*, 31(3).
- Toro, J. (2011). Situación actual del sector agropecuario en Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(3), 360-361.
- Vásquez-Jaramillo, C., Barrios, D. & Cerón-Muñoz MF. (2018). Estudio exploratorio de la calidad de vida en el trabajo de ordeñadores de sistemas de producción de leche. *Archivos de Zootecnia*, 67(258), 228-233.
- Villanueva-Mejía, D.F. (2018). Estudios sobre la Bioeconomía como fuente de nuevas industrias basadas en el capital natural de Colombia. En: *Estudio sobre Bioeconomía* (pp. 5-49). Medellín, Colombia: Universidad Eafit.



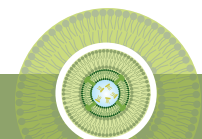
Toma de muestra de leche de la glándula mamaria para cultivo bacteriológico

A.F. Usuga¹ MV, MSc.; T. Ortiz² Zoot.; J.F. Usuga³ Ing. Forestal;
L.G. Palacio⁴ MV, MSc, Dr.Sci.*

1. Introducción

Es indispensable garantizar que la toma de la muestra de leche, el rotulado y el envío se hagan de forma correcta. La toma de muestras hace parte de la fase preanalítica, en la cual se debe velar porque las muestras a analizar estén viables, y así realizar un análisis correcto que permita obtener resultados confiables y veraces (Council, N. M, 1999).

-
1. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, felipe.usuga@udea.edu.co
 2. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, tatiana.ortiz@udea.edu.co
 3. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, junnier.usuga@udea.edu.co
 4. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, luisguillermo.palacio@udea.edu.co



Las muestras de leche pueden contaminarse fácilmente con microorganismos procedentes del ambiente, de las manos de quien toma la muestra, de la piel o del canal del pezón. Para evitar esto, es necesario asegurarse que las muestras se tomen con una técnica adecuada (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016).

2. Fuentes de toma de muestras de leche para cultivo y antibiograma

Hay tres fuentes de muestras de leche que se pueden colectar, dependiendo del objetivo deseado.

Leche de tanque de frío o de cantina

Es una forma simple y de bajo costo para determinar la presencia de patógenos causantes de mastitis en las vacas en producción. Sirve para identificar los microorganismos posiblemente responsables de mastitis y para evaluar la evolución de su presencia en el tiempo. Se recomienda repetir la colecta de las muestras al menos tres veces consecutivas antes de que la leche sea recolectada por el vehículo transportador. Así, si la leche se recoge diariamente, se aconseja tomar una muestra diaria del tanque durante tres días; si se recoge cada dos días, se toma una muestra previa a la recolección en tres oportunidades. Se considera que los organismos aislados con mayor frecuencia en las tres tomas son los que están afectando el hato.

* Este trabajo hace parte del proyecto de investigación 2018: Fortalecimiento empresarial de los productores de leche en el departamento de Antioquia, mediante la mejora de la calidad e inocuidad de la leche a través de la generación y el uso y evaluación de un producto de desarrollo tecnológico. CTO 80740-013-2019



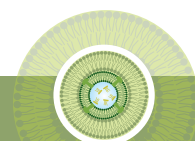
Leche de cuarto individual de la ubre

Si al hacer Test para mastitis de California (CMT) (Foto 1) se detecta que hay un cuarto afectado con mastitis, sea clínica o subclínica, solo se requiere tratar y retirar la leche de ese cuarto. Para conocer el agente involucrado, es necesario tomar una muestra de ese cuarto. El mejor momento para coleccionar la muestra es antes del ordeño; si esto no es posible deben pasar al menos cuatro horas después del último ordeño para tomar la muestra.



Foto 1. Realización de la Prueba de California para Mastitis-CMT en el diagnóstico de mastitis subclínica.

Fuente: archivo personal.



Combinación de leche de dos o más cuartos

Se utiliza esta estrategia cuando varios cuartos de una misma vaca están afectados con mastitis y se desea conocer cuáles son los agentes infecciosos que podrían estar involucrados en la etiología. Se debe procurar que el volumen de muestra de cada cuarto sea similar.

En los tres casos anteriores, cualquiera que sea la estrategia utilizada, es importante tener en cuenta lo siguiente:

- Consulte con el laboratorio donde serán procesadas las muestras cuál es el volumen que debe enviar para análisis y utilice un recipiente adecuado para el volumen requerido. Llène solo $\frac{3}{4}$ partes del recipiente para evitar que se destape cuando se congele la muestra.
- Utilice un recipiente estéril para depositar la muestra.

3. Toma de muestra para cultivo de leche

a. Toma de muestra de leche de tanque

Materiales para el muestreo:

- guantes
- cucharón
- alcohol al 70%
- recipientes estériles
- rótulos
- nevera con geles refrigerantes
- formato de remisión de muestras

Para la toma de la muestra de tanque, proceda de la siguiente manera:

- Lave sus manos con agua y jabón desinfectante.
- Use guantes desechables limpios.

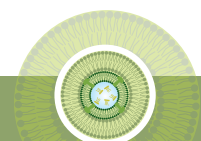


- Lave y desinfecte el cucharón con el que tomará la muestra.
- Agite la leche del tanque durante 5 minutos antes de recolectar la muestra (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016).
- Utilice un recipiente estéril para depositar la muestra y llénelo $\frac{3}{4}$ partes.
- Tome la muestra de la parte superior del tanque, nunca la tome de la salida o drenaje del tanque (Foto 2).
- Tape el recipiente inmediatamente después de tomar la muestra.
- Marque el recipiente con el nombre de la finca. Utilice marcador indeleble o cinta de enmascarar adherida al recipiente. Indique que es una muestra proveniente del tanque de enfriamiento de leche.



Foto 2. Toma de muestra de leche tanque de enfriamiento.

Fuente: archivo personal.



- Lleve a refrigeración o nevera con geles refrigerantes.
- Si estima que la muestra no llegará al laboratorio en las primeras 24 horas posteriores a la toma, es preferible enviarla al laboratorio congelada (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016).
- Diligencie el formato de remisión de muestras suministrado por el laboratorio.

b. Toma de muestra de leche de tanque

Para la toma de la muestra de cantina proceda de la siguiente manera:

- Lave sus manos con agua y jabón desinfectante.
- Use guantes desechables limpios.
- Lave y desinfecte el cucharón con el que tomará la muestra.
- Utilice un recipiente estéril para depositar la muestra.
- Agite la leche de la cantina con el cucharón moviéndolo hacia arriba y hacia abajo dentro de la cantina. Realice esta acción al menos diez veces.
- Una vez homogeneizada la leche, recoja una cucharada de leche y llene $\frac{3}{4}$ partes del recipiente de la muestra (Foto 3).
- Tape el recipiente inmediatamente después de tomada la muestra.
- Marque el recipiente con el nombre de la finca. Utilice marcador indeleble o cinta de enmascarar adherida al recipiente. Indique que es una muestra procedente de la cantina de leche.
- Lleve a refrigeración o nevera con geles refrigerantes.
- Si estima que la muestra no llegará al laboratorio en las primeras 24 horas posterior a su toma, es preferible enviarla al laboratorio congelada (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016) (Foto 10).

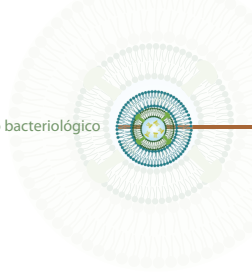


Foto 3. Toma de muestra de leche de cantina.

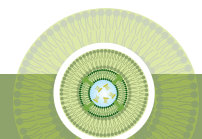
Fuente: archivo personal.

- Diligencie el formato de remisión de muestras suministrado por el laboratorio.

c. Muestra de leche de cuarto individual de la ubre

Materiales para muestreo:

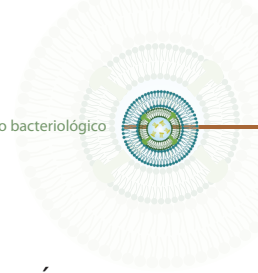
- guantes
- recipientes estériles
- alcohol al 70%
- algodón o gasas
- nevera con gel refrigerante



- antiséptico para limpiar los pezones
- toallas de papel
- rótulos
- formato de remisión de muestras

Parar la toma de la muestra de cuarto proceda de la siguiente manera:

- Lave sus manos con agua y jabón desinfectante.
- Use guantes desechables limpios.
- Observe el estado de limpieza de los pezones, si están muy sucios debe lavarlos y secarlos completamente. **No lave la ubre.**
- Utilice un recipiente estéril para depositar la muestra.
- Deseche los primeros tres chorros de leche en un recipiente de fondo oscuro (despuntar) y verifique si hay presencia de grumos que indiquen mastitis clínica (Foto 4).
- Sumerja durante 30 segundos cada pezón en una solución desinfectante (presellado), asegurándose de que todo el pezón quede impregnado (Foto 5).
- Seque cada pezón para retirar la solución del presellado utilizando una toalla o papel individual para cada pezón (Foto 6).
- Desinfecte el pezón con torundas de algodón o gasas impregnadas de alcohol al 70%. Realice movimientos circulares alrededor del pezón iniciando desde el orificio del pezón hasta llegar a la base. El algodón debe pasarse solo una vez por el mismo sitio. Deseche el algodón utilizado y repita el procedimiento hasta que el algodón salga limpio (Foto 7).
- Tenga cuidado de no tocar el pezón que ya fue desinfectado y evite que el pezón desinfectado entre en contacto con los miembros posteriores del animal.

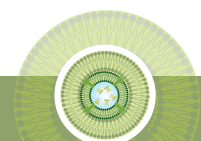


- Destape el tubo justo antes de tomar la muestra y asegúrese que ni sus manos ni el pezón toquen la superficie interna del recipiente. Mantenga siempre el extremo interno de la tapa de la tapa hacia abajo. Sostenga el tubo o vial en un ángulo de aproximadamente 45 grados mientras toma la muestra (Foto 8).
- Llene $\frac{3}{4}$ partes del recipiente de la muestra.
- Tape el recipiente inmediatamente después de tomada la muestra y asegure la tapa.
- Marque el recipiente con el nombre de la vaca y el cuarto del cual procede la muestra. Utilice marcador indeleble o cinta de enmascarar adherida al recipiente. Puede utilizar códigos para identificar el cuarto como: AD (Anterior Derecho), PD (Posterior Derecho), AI (Anterior Izquierdo) y PI (Posterior Izquierdo) (Foto 9).
- Si estima que la muestra no llegará al laboratorio en las primeras 24 horas posterior a su toma, es preferible enviarla al laboratorio congelada (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016) (Foto 10).
- Diligencie el formato de remisión de muestras suministrado por el laboratorio.

d) Muestra de leche de dos o más cuartos de la ubre

Materiales para muestreo:

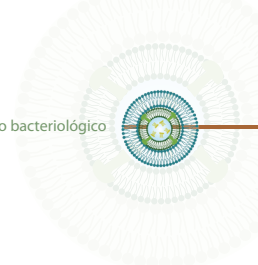
- guantes
- recipientes estériles
- alcohol al 70%
- algodón o gasas
- nevera con gel refrigerante
- antiséptico para limpiar los pezones



- toallas de papel
- rótulos
- formato de remisión de muestras

Para la toma de la muestra de los cuartos proceda de la siguiente manera:

- Lave sus manos con agua y jabón desinfectante.
- Use guantes desechables limpios.
- Observe el estado de limpieza de los pezones, si están muy sucios, debe lavarlos y secarlos completamente. **No lave la ubre.**
- Utilice un recipiente estéril para depositar la muestra
- Deseche los primeros tres chorros de leche en un recipiente de fondo oscuro (despuntar) y verifique si hay presencia de grumos que indiquen mastitis clínica (Foto 4).
- Sumerja durante 30 segundos cada pezón en una solución desinfectante (presellado), asegurándose de que todo el pezón quede impregnado (Foto 5).
- Seque cada pezón para retirar la solución del presellado utilizando una toalla o papel individual para cada uno (Foto 6).
- Desinfecte los pezones con torundas de algodón o gasas impregnadas de alcohol al 70%. Realice movimientos circulares alrededor del pezón iniciando desde el orificio del pezón hasta llegar a la base. El algodón debe pasarse solo una vez por el mismo sitio. Deseche el algodón utilizado y repita el procedimiento hasta que el algodón salga limpio.
- Se debe empezar con los pezones del lado contrario al que se encuentra el tomador de la muestra para disminuir el riesgo de contaminación. La torunda de algodón o gasa debe usarse en



un solo pezón, usar tantas torundas o gasas como sea necesario para desinfectar el pezón (Foto 7).

- Tenga cuidado de no tocar los pezones que ya fueron desinfectados y evite que los pezones desinfectados entren en contacto con los miembros posteriores del animal.
- Comience la toma de muestra desde los pezones más cercanos a usted y continúe con los pezones más alejados.
- Destape el tubo justo antes de tomar la muestra y asegúrese que sus manos o el pezón no toquen la superficie interna del recipiente. Mantenga siempre el extremo interior de la tapa hacia abajo. Sostenga el tubo o vial en un ángulo de aproximadamente 45 grados mientras toma la muestra (Foto 8).
- Colecte de uno a tres chorros de leche por pezón y haga lo mismo con cada uno de los cuartos. Empiece la recolección de la muestra de leche con los pezones más cercanos y avance hacia los más alejados.
- Llene $\frac{3}{4}$ partes del recipiente de la muestra.
- Tape el recipiente inmediatamente después de tomada la muestra y asegure la tapa.
- Marque el recipiente con el nombre de la vaca y especifique que es una muestra procedente de varios cuartos. Utilice marcador indeleble o cinta de enmascarar adherida al recipiente. (Foto 9).
- Si estima que la muestra no llegará al laboratorio en las primeras 24 horas posterior a su toma, es preferible enviarla al laboratorio congelada (Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2016) (Foto 10).
- Diligencie el formato de remisión de muestras suministrado por el laboratorio.

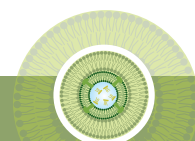




Foto 4. Despunte: descarte de los primeros chorros de leche en un recipiente de fondo oscuro.

Fuente: archivo personal.



Foto 5. Realización de presellado de los pezones con solución desinfectante.

Fuente: archivo personal.

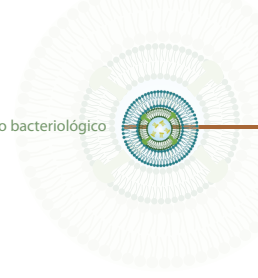


Foto 6. Secado de los pezones después del presellado.

Fuente: archivo personal.



Foto 7. Desinfección de los pezones.

Fuente: archivo personal.

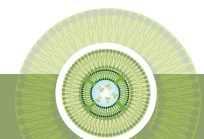




Foto 8. Toma de muestra de leche de cuarto. Observe que el recipiente está inclinado a un ángulo de 45 grados.

Fuente: archivo personal.



Foto 9. Rotulado o marcado del recipiente con la muestra.

Fuente: archivo personal.

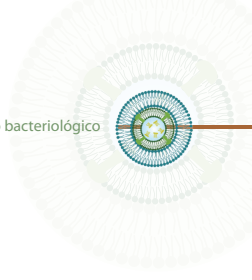


Foto 10. Conservación de la muestra en nevera con gel refrigerante.

Fuente: archivo personal.

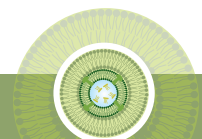
Bibliografía

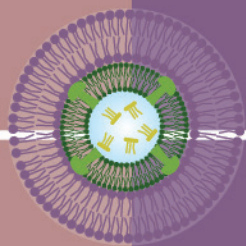
Adkins, P.R.F., & Middleton, J.R. (2017). *Laboratory handbook on bovine mastitis*. New Prague, USA: National Mastitis Council.

Hogan, J.S. (1999). *Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis*. Wisconsin, USA: National Mastitis Council.

Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory. (2016). Milk Sample Collection. Recuperado el 19 de junio de 2020 de:

<https://www.wvdl.wisc.edu/wp-content/uploads/2016/07/milk-sample-collection-15-08-10.pdf>





Capítulo 3

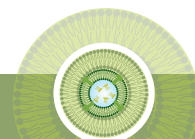
Paso a paso para la caracterización fenotípica y genotípica de bacterias que con frecuencia causan infección intramamaria

J. Vidal¹ MyB, MSc., K. Vargas² MyB, MSc.*

1. Introducción

La determinación de los agentes que afectan la glándula mamaria resulta esencial para seleccionar protocolos de tratamiento, determinar medidas de control en un hato o intervenir cuando se presentan nuevos casos (Adkins & Middleton, 2018). El cultivo microbiológico es considerado como prueba “*gold standard*” para el diagnóstico de agentes causantes de infección intramamaria (El-Sayed et al., 2017); sin embargo,

-
1. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Unidad de Diagnóstico, Universidad de Antioquia, juana.vidal@udea.edu.co
 2. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, karen.vargas@udea.edu.co



hoy en día se debe hacer junto con el método denominado reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* – PCR; en inglés) (El-Sayed et al., 2017).

Se han descrito como agentes etiológicos de la mastitis bovina más de 150 especies y subespecies bacterianas (Shome et al., 2011). Los patógenos más frecuentes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y bacterias gram-negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia*, así como diferentes especies de *Pseudomonas*, *Proteus* y *Pasteurella* (Reinoso et al., 2008; Vidal et al., 2016). Durante más de 50 años, la clasificación de estos microorganismos fue establecida como causantes de mastitis contagiosa y ambiental. Dicha clasificación se comenzó a modificar por los datos recientes obtenidos a través de herramientas moleculares que contradicen la antigua clasificación (El-Sayed et al., 2017).

El objetivo de este capítulo es ofrecer una guía que ilustra cómo se pueden aislar, identificar y caracterizar de forma fenotípica y genotípica los agentes patógenos causantes de la mastitis bovina.

2. Identificación fenotípica de bacterias patógenas en leche

A continuación se muestra el paso a paso a seguir en el laboratorio para determinar el microorganismo que afecta la glándula mamaria (Figura 1).

* Los resultados de este capítulo son productos de la investigación: Identificación de proteínas inmunogénicas asociadas a formación de biopelículas por cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina. Identificación de proteínas inmunogénicas asociadas a formación de biopelículas por cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina. No. Acta: 2017-15551

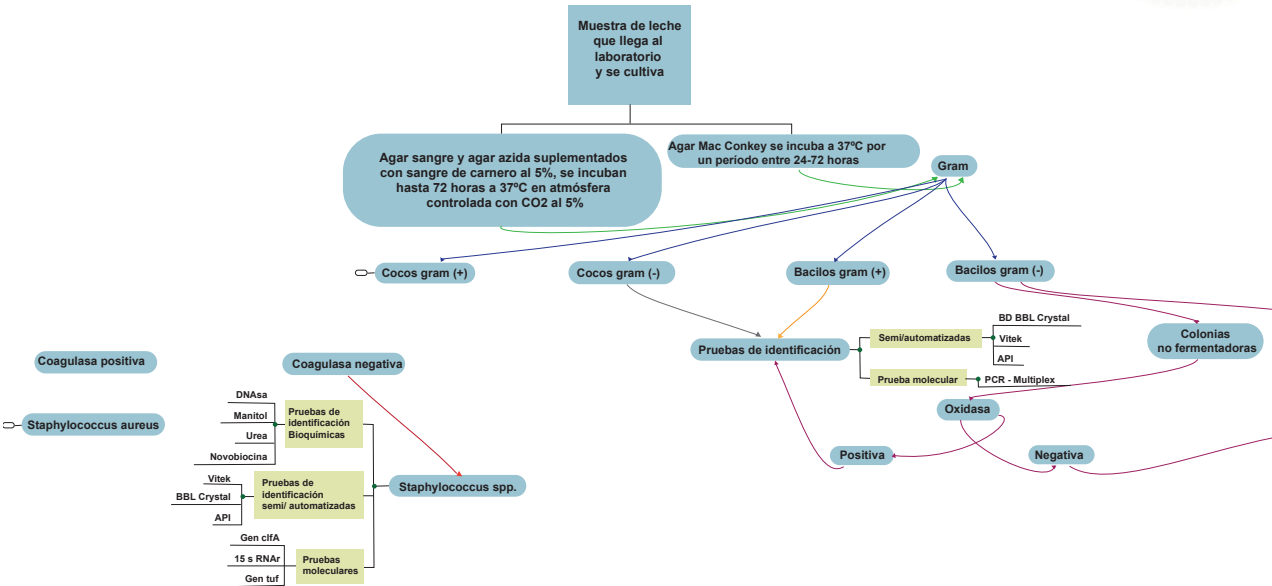


Figura 1. Procedimiento e identificación fenotípica de bacterias a partir de muestras de leche de bovinos con mastitis.

Fuente: elaboración propia. Encuentre la figura completa en el Anexo 1, disponible en:

<https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/343363/20803362>

2.1 Identificación y genotipificación de bacterias aisladas

El objetivo principal de la tipificación molecular es la evaluación de las relaciones genéticas entre los aislamientos del mismo género bacteriano. Se emplea para comprender la relación genética entre las bacterias, la cual es esencial para determinar la fuente y rutas de infección, confirmar o descartar brotes y reconocer cepas particularmente virulentas (Tenover et al., 1997; MacCannell, 2013; Pérez-Losada, 2013). Los patrones genéticos hallados por las técnicas de genotipificación proporcio-

nan datos primarios que se usan en estudios epidemiológicos a corto plazo; también sirven para evaluar tendencias epidemiológicas en áreas geográficas definidas o para hacer comparaciones entre diferentes países (Tenover et al., 1997; MacCannell, 2013).

Actualmente, los métodos **genotípicos** son los más usados para estudiar la epidemiología de los microorganismos dada su alta sensibilidad para identificar exactamente el patógeno que se encuentra causando la infección. Así, los métodos genotípicos han contribuido a aumentar la efectividad de los sistemas de vigilancia y mejorar las estrategias de control en salud pública (Clark et al., 2012).

Entre los métodos comúnmente usados para genotipificar bacterias se destaca la prueba PCR. Existen además métodos que sirven para analizar las secuencias de genes específicos en las bacterias, como: PCR de elementos palindrómicos extragenéticos repetitivos (rep-PCR), secuencia de tipo de multilocus (Multilocus sequence typing - MLST), enzimas de fragmentos de restricción (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP), variantes en un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism - SNP), electroforesis de campo pulsado (Pulsed Field Electrophoresis System - PFEF), multilocus de número variable de repeticiones en tándem (Multiple locus variable number of tandem repeats -MLVA) y la tipificación de *Staphylococcus aureus* con el gen *spa* (Gymrek et al., 2013).

Extracción de ADN para análisis

Las células procariontas están constituidas por una membrana externa compuesta por una bicapa lipídica y un citoplasma que contiene: un cromosoma circular con el material genético o ADN, proteínas, sales inorgánicas, iones metálicos, moléculas de azúcar y otros elementos de la maquinaria celular (Montgomery & Sise, 1990).

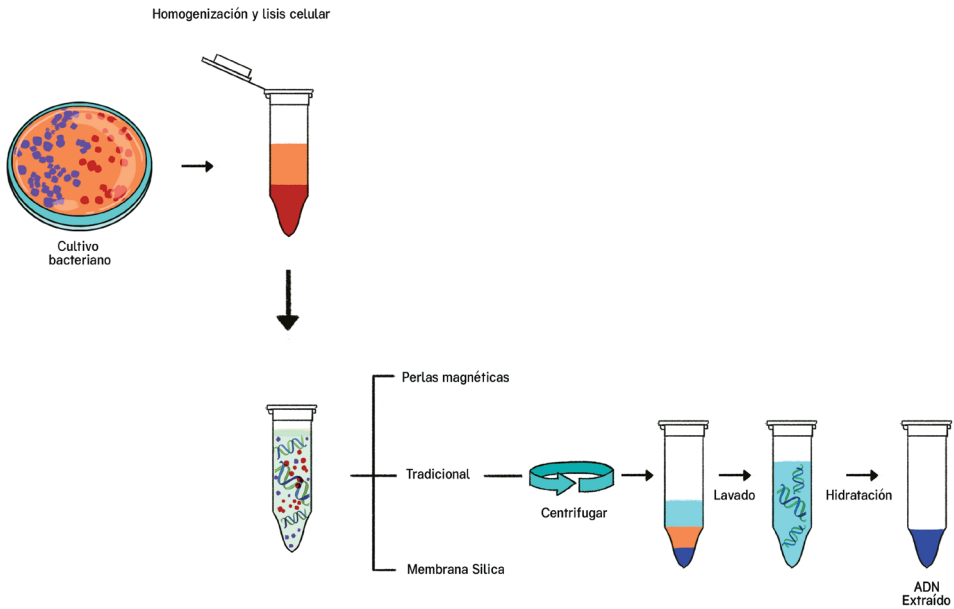


Figura 2. Extracción de ADN.

Fuente: elaboración propia.

La extracción del ADN es el proceso por el cual se separan y recuperan los ácidos nucleicos (citosina, guanina, adenina, timina), descartando las proteínas y otros materiales celulares. El principal objetivo de cualquier técnica de extracción de ADN es eliminar la mayor parte de las sustancias que puedan interferir en las pruebas posteriores o causar que las moléculas de ADN extraídas se descompongan con el tiempo (Löffler et al., 1997).

De forma general, para la extracción de ADN a partir de un cultivo sólido con crecimiento bacteriano se toman de 2 a 3 colonias de bacterias y se transfieren a un vial con 300µl de agua destilada estéril. Posteriormente, se separan los ácidos nucleicos de proteínas y detritos celulares por medio de buffer de lisis, se centrifuga con el fin de separar el ADN (sobrenadan-

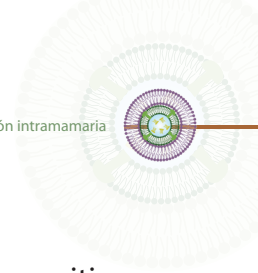
te) de los restos celulares (botón), y dicho sobrenadante se transfiere a un nuevo vial el cual se almacenará a 4 °C hasta el momento de ser utilizado.

2.1.1 PCR

La técnica PCR es utilizada para amplificar *in vitro* genes de importancia presentes en el ADN de los microorganismos. Para ello, se emplean cebadores (*primers*), que son oligonucleótidos específicos para un gen en particular, y que deben contener una secuencia exclusiva que completamente específica y selectivamente a la secuencia diana del ADN del microorganismo. Los cebadores pueden estar diseñados para diferenciar entre microorganismos miembros de la misma especie o para identificarlos a nivel de subespecies. Para realizar el diagnóstico de los patógenos presentes en leche, y evitar resultados falsos negativos, la secuencia diana del cebador debe ser altamente conservada dentro de todas las cepas de la especie bacteriana que se pretende identificar.

Durante la PCR se lleva a cabo un proceso semejante al de la replicación *in vivo* de ADN (ver Figura 3). La PCR está compuesta por fases que incluyen cambios de temperatura que se realizan por medio de un equipo llamado termociclador, instrumento que controla la temperatura y la duración de cada ciclo, lo cual asegura una amplificación eficiente. Este proceso permite que se hagan miles de copias del gen específico a evaluar (ver Figura 3) (Ranjbar et al., 2014).

Las tres fases de la PCR son: desnaturalización, anillamiento y extensión; estas se repiten entre 35 y 40 veces para lograr la amplificación exponencial del gen de interés. La **desnaturalización** consiste en calentar el ADN entre 92 y 98°C para causar la alteración y separación de las hebras, al cortar los enlaces de hidrógeno que unen los nucleótidos.



Una vez estas se separan, se disminuye la temperatura para permitir que los cebadores se emparejen a regiones complementarias del gen de interés; a este paso se le denomina **anillamiento**. La temperatura de anillamiento se encuentra entre 48 y 72°C y está relacionada con la temperatura de fusión (T_m) de los cebadores, la cual se determina para cada par de cebadores que se use en la PCR. Durante el paso de **extensión** (68-72°C) la polimerasa se extiende por la cadena de ADN molde ingresando nucleótidos para formar una réplica del gen.

En el paso final de la PCR, se mantiene una temperatura única por un tiempo determinado (que puede variar entre 68 y 72°C entre 5 y 10 minutos) para permitir finalizar cualquier copia incompleta y eliminar toda

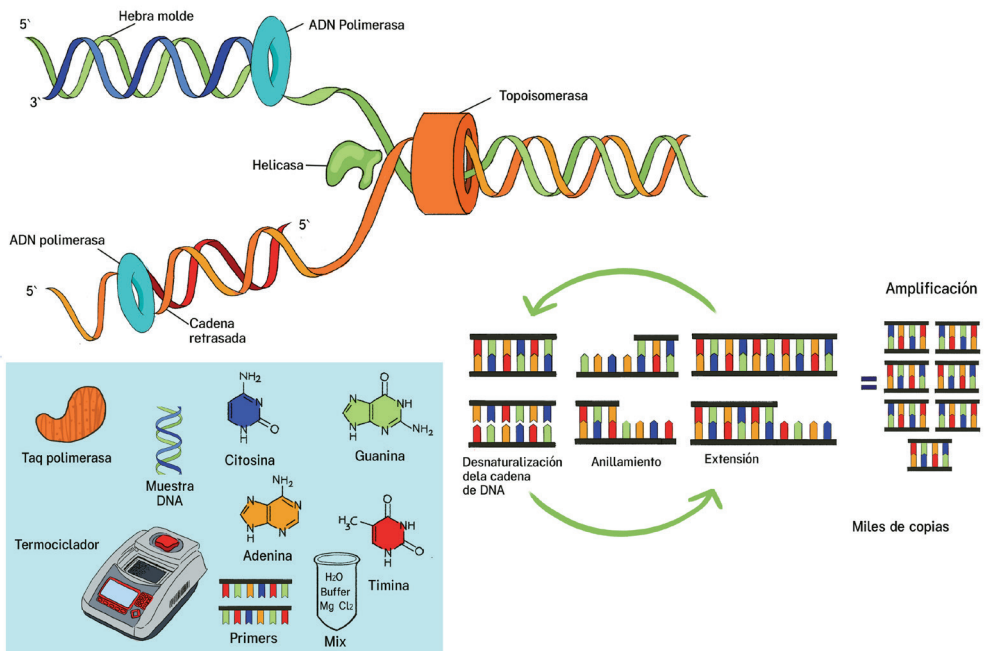
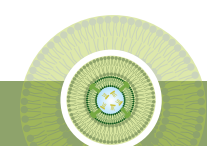


Figura 3. Replicación *in vitro* del ADN por la técnica de PCR.

Fuente: elaboración propia.



la maquinaria de replicación. Una vez completada la PCR, el termociclador se programa a una temperatura entre 4 y -10°C para mantener la integridad del producto hasta el momento en que los tubos se puedan retirar de la máquina (Zhou et al., 2016) (Figura 3).

2.1.2 Rep-PCR

Para el estudio de la diversidad bacteriana se usa la rep-PCR. Los cebadores están diseñados para hallar y amplificar las secuencias repetidas intercaladas de ADN que se encuentran en el genoma (Figura 4) (Bilung et al., 2018). Después de ubicar las secuencias repetitivas en el genoma, el proceso continúa como una PCR tradicional que amplifica estas secuencias.

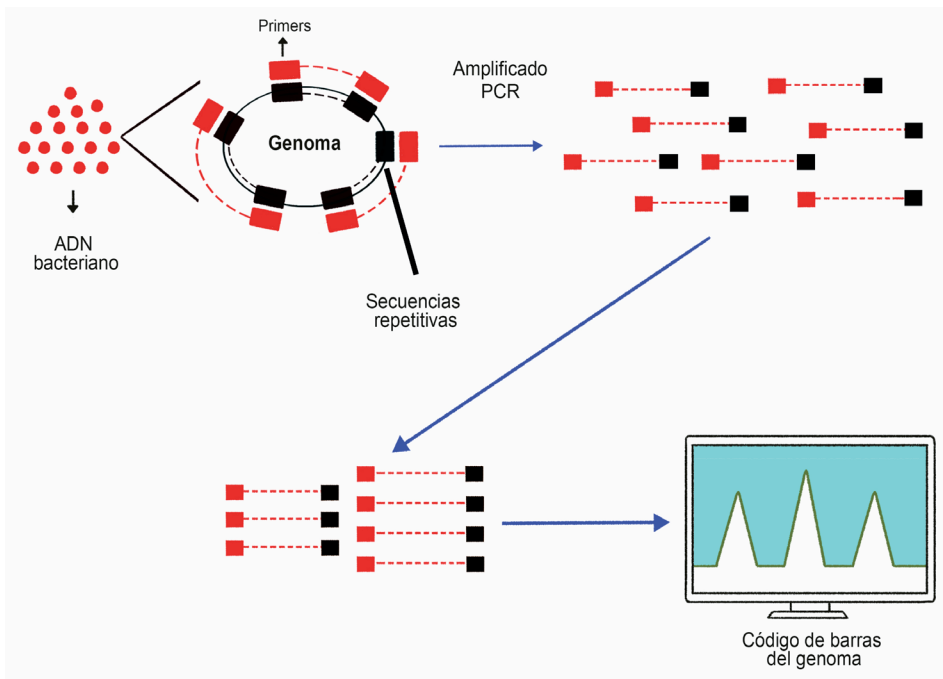
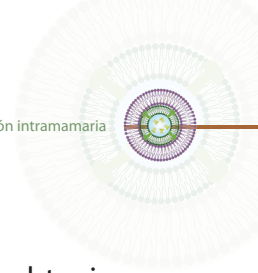


Figura 4. Inserción de *primers* o cebadores en secuencias repetitivas del genoma, rep-PCR.

Fuente: elaboración propia.



En esta metodología se lleva a cabo un análisis de las secuencias obtenidas según el tamaño de sus amplificadas, sus cargas eléctricas, variaciones e intensidad. Con esta información se obtiene un “código de barras” de cada genoma bacteriano.

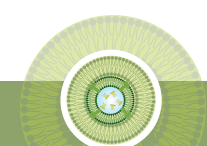
2.1.3 Tipificación de *Staphylococcus aureus* por el gen que codifica proteína estafilocócica A (*spa*)

El gen *spa*, que codifica para la proteína A, es un gen conservado y constitutivo en *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y su tipificación permite relacionar esta bacteria con sus orígenes. Al mismo tiempo, dicho gen posee una región no codificante llamada región polimórfica X (Sabat et al., 2017) que consta de hasta 12 unidades (conjunto de ácidos nucleicos), cada una con organización máxima de 24 pares de bases (ácidos nucleicos). A esta región se le denomina “región número variable de repeticiones en tándem” (*Variable Number of Tandem Repeat* – VNTR) y los resultados de su secuenciación se presentan en letras y números (Figura 5). Esta secuencia es específica de cada cepa de *Staphylococcus aureus*, lo que permite su clasificación (Peacock et al., 2019).

Las secuencias encontradas se asignan a tipos de *spa* particulares utilizando el sitio web de tipificación de *spa* (<http://www.spaserver.ridom.de>). Así, esta técnica es altamente discriminatoria y útil tanto en estudios epidemiológicos locales como globales (Figura 5) (O’Hara et al., 2016).

Ejemplo práctico de genotipificación de cepas de *S. aureus*

El siguiente ejemplo es tomado del trabajo de grado de maestría de Vargas (2019). A cada cepa se le amplificó la región polimórfica del gen que codifica para la proteína A (gen *spa*), conocida como región X, mediante PCR. Los cebadores empleados en la reacción fueron los descritos por



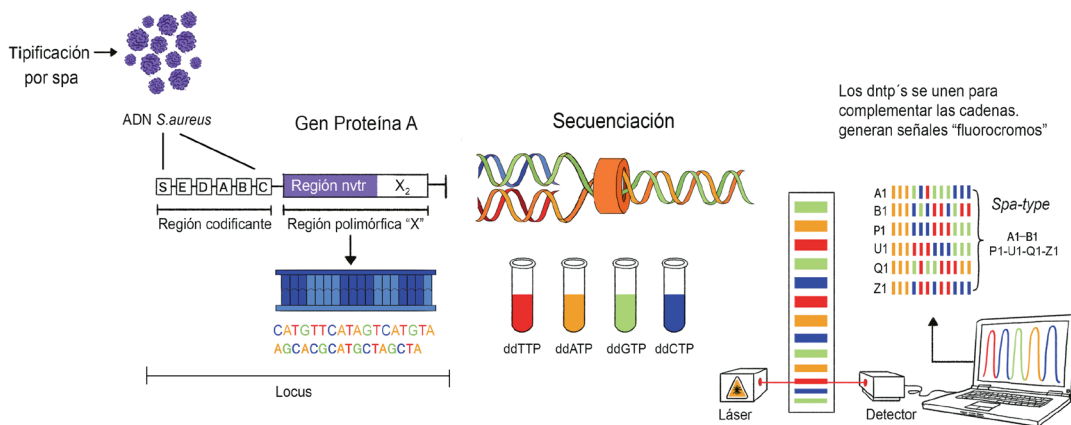


Figura 5. Tipificación de *Staphylococcus aureus* por el gen que codifica la proteína estafilocócica A (*spa*).

Fuente: elaboración propia.

Shopsin y colaboradores (1999), mientras que el perfil térmico seguido fue el reportado por Jiménez y colaboradores (2012): desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 60 °C por 1 minuto y extensión 72 °C por 1 minuto durante 30 ciclos. El tamaño de banda esperado fue de alrededor de 1000 pb, la cual fue posteriormente secuenciada por MacroGen (USA). Los *spa* tipos fueron asignados en dos etapas; en la primera se usó el software eGenomics (Shopsin et al., 1999) y en la segunda se empleó el sitio web Ridom SpaServer (<http://www.spaserver.ridom.de/>) desarrollado por Ridom GmbH. Los CCs fueron inferidos mediante el análisis del patrón de repeticiones de los *spa* tipos obtenidos (Strommenger et al., 2008) o consultando el sitio web de Ridom SpaServer.

La tabla a continuación muestra los resultados obtenidos por municipio evaluado (en Antioquia).

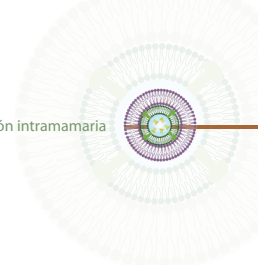
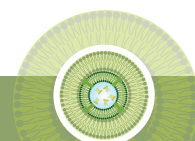


Tabla 1. Resultados obtenidos de la genotipificación de *S. aureus* por medio de la metodología *spa* tipo

Municipio	Complejo Clonal identificado	<i>Spa</i> tipo identificado*	<i>Spa</i> tipo diferentes (%)
San Pedro de los Milagros	CC1, CC479, CC97, CC398, CC8	Nuevos , t605, t543, t527, t2207, t267, t3626, t521, t571, t2112, t8845, t7753, t398, t345, t064	15 (25%)
Santa Rosa de Osos	CC45, CC97, CC8, CC479, CC1, CC98, CC5, CC522, CC084	Nuevos , t521, t543, t267, t2207, t445, t024, t2143, t008, t1106, t1236, t149, t17143, t2112, t2803, t4103, t527, t692	18 (38%)
Belmira	CC479, CC8, CC30, CC1, CC97, CC59, CC98, CC398	Nuevos , t543, t267, t2112, t008, t064, t1135, t2207, t4911, t521, t1236, t5051, t571	13 (38%)
Bello	CC97, CC15, CC479, CC 1, CC5, CC98	t267, t521, t605, t1885, t543, t1107, t1236, t2112, t2207, Nuevos	10 (31%)
Entrerriós	CC97, CC30, CC 1, CC164, CC97, CC479	t267, t521, t1135, t2207, Nuevos , t1429, t2112, t543, t605	10 (44%)
Urrao	CC 1, CC398, CC97, CC037, CC22, CC479	t189, t527, t605, t571, t267, t1190, t515, t521, t543, Nuevos	10 (50%)
Don Matías	CC97, CC1, CC4118	t521, t2207, t527, t1106, t426, Nuevo	6 (35%)
La Unión	CC97, CC8	Nuevo , t521, t2413, t064	4 (44%)
Carolina del Príncipe	CC97, CC479, CC97	t267, t543, t521, Nuevo	4 (50%)
Rionegro	CC1, CC97, CC479	Nuevo , t2207, t267, t543	4 (67%)
Abejorral	CC97, CC5	Nuevo , t267, t458	3 (80%)
San José de la Montaña	CC97, CC1, CC22	t2112, t2207, t521, t515	4 (80%)
La Ceja	CC479, CC4118, CC15	t543, t426, t1885	3 (75%)
Santuario	CC1	Nuevo , t2207, t6280	1 (33%)
San Jerónimo	CC97	t521	2 (99%)

Fuente: Vargas, 2019.

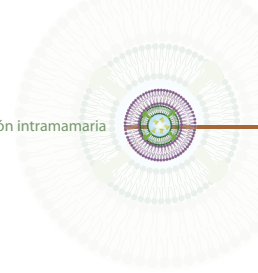


Como se puede ver en la Tabla 1, casi todas las regiones geográficas donde se aisló *S. aureus* presentan clones que no se habían reportado anteriormente, esto indica que las cepas están mutando.

Tabla 2. *Spa* tipos hallados en bovinos afectados con mastitis subclínica y reporte de literatura en donde se encuentra el *spa* tipo reportado en la misma especie u en otras.

Complejo Clonal	<i>Spa</i> tipo (n)	Presencia reporte de <i>Spa</i> tipos
CC 97	t521(12), t267(12)	Presencia en bovinos y humanos, reportado en Mastitis subclínicas en bovinos (Haveri et al., 2008)
CC1/188	t605(8), t527(5), t1190(1), t2207(6), t2207(6)	Presencia en bovinos, conejos (Haveri et al., 2008)
CC479	t543 (9)	Presencia en mastitis clínica y subclínica en bovinos (Boss et al., 2016)
CC8	t008(1), t064(1), t024(1)	Infecciones adquiridas en la comunidad (hospitalarias) humanos, bovinos. (Boss et al., 2016)
CC30	t1135(3)	Principales clones HA y MRSA (Jiménez et al., 2012)
CC45	t2143(1) , t445(2)	Presencia en humanos (Boss et al., 2016)
CC398	t571(2)	Presencia en humanos, asociado a la ganadería (Boss et al., 2016)
CC5	t149(2)	Presencia en humanos (Jiménez et al., 2012)
CC15	t1885(1)	Presencia en humanos (Jiménez et al., 2012)
	t4911 (1)	Presencia en humanos (van Belkum et al., 2009)
	t3626 (1)	Presencia en humanos como cepa MRSA (Van Belkum et al., 2008)
	t515(1)	Presencia en humanos como cepa MRSA (Shore et al., 2011)
Nuevos	(25)	

Fuente: Vargas, 2019.

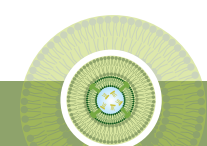


En este estudio se encontró que aproximadamente el 68% de los casos de mastitis analizados fueron causados por cepas de *S. aureus* previamente reportadas como patógenas en humanos (Vargas, 2019). Esta situación requiere atención desde la salud pública, pues en Colombia entre el 43.6% y el 77% del ordeño continúa siendo manual (Ramírez, 2004; Reyes Velez, 2016), lo cual incrementa el riesgo de que los ordeñadores adquieran este patógeno y lo diseminen entre las personas de su entorno. Además, alrededor del 41% de la leche cruda (sin pasteurizar) se comercializa informalmente (Ruiz Cortés et al., 2012), lo que puede facilitar su propagación entre personas que no tengan exposición al ganado (Shepherd et al., 2013).

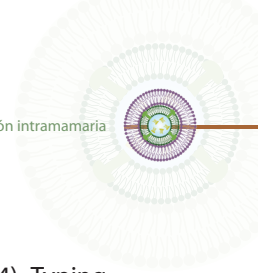
Algunas de las explicaciones a la alta variabilidad genotípica de *S. aureus* (30%) son: la probabilidad de una alta densidad de animales en hatos lecheros bovinos, el ingreso y la salida de animales al hato desde diferentes zonas geográficas, los sistemas de manejo que pueden cambiar entre zonas, la geografía, la temporada del año, la relación entre huéspedes y contacto con el ordeñador. Todos estos factores favorecen la diversidad de la bacteria y facilitan su diseminación en bovinos, humanos y el ambiente (Boss et al., 2016; Kosecka-Strojek et al., 2016).

Bibliografía

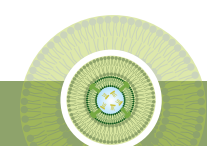
- Adkins, P.R.F. & Middleton, J.R. (2018). Methods for diagnosing mastitis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 34(3), 479–491.
- Bilung, L.M., Pui, C.F., Su'ut, L. & Apun, K. (2018). Evaluation of BOX-PCR and ERIC-PCR as Molecular Typing Tools for Pathogenic *Leptospira*. *Disease Markers*, 2018.
- Boss, R., Cosandey, A., Luini, M., Artursson, K., Bardiau, M., Breitenwieser, F., Hehenberger, E., Lam, T., Mansfeld, M. & Michel, A. (2016). Bovine *Staphylococcus aureus*: Subtyping, evolution, and zoonotic transfer. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 515–528.



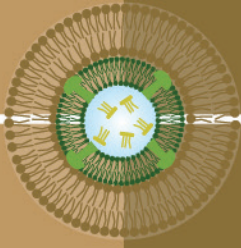
- Clark, C.G., Taboada, E., Grant, C.C.R., Blakeston, C., Pollari, F., Marshall, B., Rahn, K., MacKinnon, J., Daignault, D. & Pillai, D. (2012). Comparison of molecular typing methods useful for detecting clusters of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates through routine surveillance. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 798–809.
- El-Sayed, A., Awad, W., Abdou, N.-E. & Castañeda-Vázquez, H. (2017). Molecular biological tools applied for identification of mastitis causing pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 5(2), 89–97.
- Gymrek, M., McGuire, A.L., Golan, D., Halperin, E. & Erlich, Y. (2013). Identifying personal genomes by surname inference. *Science*, 339(6117), 321–324.
- Haveri, M., Hovinen, M., Roslo, A. & Pyo, S. (2008b). Molecular Types and Genetic Profiles of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Intramammary Infections and Extramammary Sites. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(11), 3728–3735. doi:10.1128/JCM.00769-08
- Jiménez, J.N., Ocampo, A.M., Vanegas, J.M., Rodriguez, E.A., Mediavilla, J.R., Chen, L., Muskus, C.E., Vélez, L.A., Rojas, C. & Restrepo, A.V. (2012). CC8 MRSA strains harboring SCCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals. *PLoS One*, 7(6), e38576.
- Kosecka-Strojek, M., Ilcyszyn, W.M., Buda, A., Polakowska, K., Murzyn, K., Panz, T., Bialecka, A., Kasproicz, A., Jakubczak, A. & Krol, J. (2016). Multiple-locus variable-number tandem repeat fingerprinting as a method for rapid and cost-effective typing of animal-associated *Staphylococcus aureus* strains from lineages other than sequence type 398. *Journal of Medical Microbiology*, 65(12), 1494–1504.
- Löffler, J., Hebart, H., Schumacher, U., Reitze, H. & Einsele, H. (1997). Comparison of different methods for extraction of DNA of fungal pathogens from cultures and blood. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(12), 3311–3312.
- MacCannell, D. (2013). Bacterial strain typing. *Clinics in Laboratory Medicine*, 33(3), 629–650.
- Montgomery, G.W. & Sise, J.A. (1990). Extraction of DNA from sheep white blood cells. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 33(3), 437–441.
- Pérez-Losada, M., Cabezas, P., Castro-Nallar, E. & Crandall, K. (2013). Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, 16, 38–53.
- Ramírez, R. (2004). El Ordenamiento Territorial Municipal: Una Aproximación Desde Colombia. *Revista Del Instituto de Investigación FIGMMMGM*, 7(13), 31–36.



- Ranjbar, R., Karami, A., Farshad, S., Giammanco, G. M. & Mamma, C. (2014). Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide. *The New Microbiologica*, 37(1), 1–15.
- Reinoso, E.B., El-Sayed, A., Lämmler, C., Bogni, C. & Zschöck, M. (2008). Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from humans, bovine subclinical mastitis and food samples in Argentina. *Microbiological Research*, 163(3), 314–322.
- Reyes Velez, J. (2016). *Streptococcus agalactiae* subclinical mastitis epidemiology and control in Colombian dairy herds. Charlottetown, PE: University of Prince Edward Island. Recuperado de: <http://islandscholar.ca/islandora/object/ir:20242/dataset-stream/PDF/download/citation.pdf>
- Ruiz Cortés, T., Orozco, S., Rodríguez, L.S., Idárraga, J. & Olivera, M. (2012). Factores que afectan el recuento de UFC en la leche en tanque en hatos lecheros del norte de Antioquia-Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 147-155. Recuperado de: <https://doi.org/10.31910/rudca.v15.n1.2012.812>
- Sabat, A.J., Hermelijn, S.M., Akkerboom, V., Juliana, A., Degener, J. E., Grundmann, H. & Friedrich, A.W. (2017). Complete-genome sequencing elucidates outbreak dynamics of CA-MRSA USA300 (ST8-spa t008) in an academic hospital of Paramaribo, Republic of Suriname. *Scientific Reports*, 7, 41050.
- Shepherd, M.A., Fleming, V.M., Connor, T.R., Corander, J., Feil, E.J., Fraser, C. & Hanage, W.P. (2013). Historical zoonoses and other changes in host tropism of *Staphylococcus aureus*, identified by phylogenetic analysis of a population dataset. *PLoS One*, 8(5).
- Shome, B.R., Das Mitra, S., Bhuvana, M., Krithiga, N., Velu, D., Shome, R., Isloor, S., Barbuddhe, S.B. & Rahman, H. (2011). Multiplex PCR assay for species identification of bovine mastitis pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 111(6), 1349–1356.
- Shopsin, B., Gomez, M., Montgomery, S.O., Smith, D.H., Waddington, M., Dodge, D. E., Bost, D.A., Riehman, M., Naidich, S. & Kreiswirth, B.N. (1999). Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(11), 3556–3563.
- Shore, A.C., Deasy, E.C., Slickers, P., Brennan, G., O'Connell, B., Monecke, S., Ehricht, R. & Coleman, D.C. (2011). Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent mecA, mecI, mecR1, blaZ, and ccr genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(8), 3765–3773.



- Strommenger, B., Bralke, C., Heuck, D., Schmidt, C., Pasemann, B., Nübel, U. & Witte, W. (2008). *spa* typing of *Staphylococcus aureus* as a frontline tool in epidemiological typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(2), 574–581.
- Tenover, F.C., Arbeit, R.D. & Goering, R.V. (1997). How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections a review for healthcare epidemiologists. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 18(6), 426–439.
- Van Belkum, A., Melles, D.C., Nouwen, J., van Leeuwen, W.B., van Wamel, W., Vos, M.C., Wertheim, H.F.L. & Verbrugh, H.A. (2009). Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(1), 32–47. Recuperado de: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.09.012>
- Van Belkum, A., Melles, D.C., Peeters, J.K., Van Leeuwen, W.B., Van Duijkeren, E., Huijsdens, X.W., Spalburg, E., De Neeling, A. J., Verbrugh, H.A. & Dutch Working Party on Surveillance Research of MRSA (SOM) (2008). Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type 398 in pigs and humans. *Emerging Infectious Diseases*, 14(3), 479.
- Vargas, K.S. (2019). *Caracterización molecular de cepas Staphylococcus Aureus aisladas de leche de bovinos con mastitis en Antioquia*. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias.
- Vidal, J., Vargas, K., Parra, L., Rivera, A., Macias, D., Torres, G. & Olivera, M. (2016). Prevalence of mastitis causing bacteria isolated in two diagnostic laboratories in Antioquia (Colombia), between the years 2013 and 2015. *Global Veterinary Microbiology and Veterinary Medicine Summit*, 7(6), 38. doi:10.4172/2157-7579.C1.019
- Zhou, Q., Wang, M., Yuan, Y., Wang, X., Fu, R., Wan, H., Xie, M., Liu, M., Guo, X. & Zheng, Y. (2016). Complete meiosis from embryonic stem cell-derived germ cells in vitro. *Cell Stem Cell*, 18(3), 330–340.



Capítulo 4

Árbol de decisiones para interpretar y controlar la mastitis en el hato

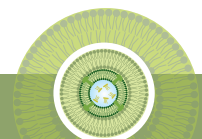
I. Cifuentes¹ MV.

1. Introducción

Las mastitis clínica y subclínica constituyen un problema mundial en los hatos de leche. Se estima que el 10% de las vacas lactantes sufren de esta condición, lo que reporta pérdidas en leche entre el 10 y el 50% (Bonifaz et al., 2016).

El ordeñador detecta fácilmente la mastitis clínica y reporta al ganadero, quien puede calcular la pérdida económica reflejada en los gastos veterinarios, los medicamentos, la leche que se dejó de producir y el tiempo de retiro. Por el contrario, la mastitis subclínica no es fácilmente detectable, por lo que su impacto económico es difícil de medir (Franzoi et al., 2020; Gerlach et al., 2009).

1. Asesor independiente, idacimo@gmail.com



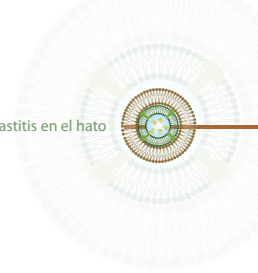
La mastitis subclínica se detecta con el recuento de células somáticas (RCS) y el test de mastitis California (CMT). Luego se envía al laboratorio una muestra para analizar la bacteria que está afectando el o los cuartos. Con esta información el técnico puede hacer el análisis económico de la leche que se dejó de producir (Morales et al., 2014).

El propósito de este capítulo es mostrar al técnico y al productor cómo se lleva la información de cada vaca y cómo se analiza por vaca y por ható. También se busca ilustrar la forma en que se evalúan los resultados para tomar decisiones en manejo y tratamientos según el RCS y el CMT. Además, se muestra cómo evaluar el costo de la leche que se dejó producir.

Prevenir y controlar la mastitis implica un programa de acciones permanentes y a largo plazo que requiere el compromiso del propietario de las vacas, de los ordeñadores y trabajadores y del técnico que asisten el predio. Todos deben estar en sintonía con el programa y con el técnico que lo dirige para que este sea exitoso (Reyes et al., 2017).

El programa cuenta con varios pasos (Pantoja et al., 2020):

- a. Control individual con el CMT cada 3 o 4 semanas.
- b. Control lechero individual una vez por mes.
- c. Cultivo de muestras de leche de tanque, de una muestra de leche de los 4 cuartos de la vaca y cultivo individual de cuarto, en caso de ser necesario.
- d. Seguimiento de todos los resultados mes a mes para su interpretación.
- e. Toma de decisiones, con el compromiso del propietario y de los ordeñadores a seguir los procedimientos que el veterinario recomiende.
- f. Compromiso del propietario a permanecer en el programa, con constante evaluación y seguimiento de resultados.



2. Evaluación de la mastitis subclínica y toma de decisiones

La evaluación de la mastitis subclínica se basa en el recuento de células somáticas (RCS). Para llevar el registro, es necesario tener una hoja de cálculo en donde se consignen el nombre y número de la vaca, que siempre deben coincidir; solamente serán diferentes las vacas nuevas que ingresan en el control lechero y no aparecerán las que salieron del mismo por haber entrado en periodo seco.

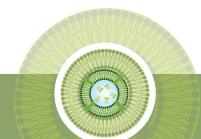
En las siguientes columnas se consignan los resultados de células somáticas del CMT, señalando de qué cuarto proviene el resultado y la identificación del agente causal. Por otra parte, se debe incluir el dato de días en leche, el cálculo del aporte de células somáticas (CS) al tanque (ingresar la fórmula que se da en el archivo 2) y una columna para las observaciones.

Esta información puede complementarse con la que arroja el control lechero como grasa, proteína, MUN y BHB.

La información que se recoge debe ser cuidadosamente diligenciada para hacer el seguimiento correcto de la evolución de las medidas sanitarias que se toman con cada uno de los animales y en el predio en general.

Las definiciones que se usan para clasificar el estado de la vaca se hacen de acuerdo con la comparación de dos controles seguidos y separando las vacas de primer parto de las de dos o más (Franzoi et al., 2020):

- **Vaca sana:** con ≤ 100.000 CS para vacas de primer parto y ≤ 200.000 para vacas de más de un parto en los dos controles que se comparan.
- **Vaca crónica:** con > 100.000 CS para vacas de primer parto y > 200.000 para vacas de más de un parto en los dos controles que se comparan.

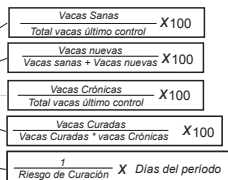


56	27	188	3,9	Recuperada	1,3%	8	73
57	26	109	3,1	Sana	0,7%	3	198
58	19	256	4,4	Crónica	1,2%	3	241
61	17	27	1,1	Sana	0,1%	1	184
63	30	57	2,2	Sana	0,4%	4	72
64	23	106	3,1	Sana	0,6%	2	189
65	13	61	2,2	Sana	0,2%	1	182
70	23	305	4,6	Crónica	1,8%	4	244
71	21	32	1,4	Sana	0,2%	1	89
72	22	316	4,7	Nueva	1,7%	3	295

ITEM	Cantidad	%
Vacas RCS <= 200	35	69%
Vacas RCS 201 - 400	10	20%
Vacas RCS > 400	6	12%

Fecha control actual	19/02/2019
Fecha control anterior	19/01/2019
Días del periodo	31

ITEM	No.	%	
Vacas Sanas	23	51%	% Vacas Sanas
Vacas Nuevas	3	12%	Riesgo de Neo infección
Vacas Crónicas	11	24%	% Vacas Crónicas
Vacas Curadas	8	42%	Riesgo de Curación
Duración de la Infeción	74	días	
Prevalencia Mastitis Subclínica		7,0%	



$$\left(\left(\frac{\text{Riesgo de neo infección} \times 100}{\text{Días del periodo}} \times \frac{\text{Duración de la infección}}{365} \right) + \left(\frac{\text{Riesgo de neo infección} \times 100}{\text{Días del periodo}} \times \frac{\text{Duración de la infección}}{205} + 1 \right) \right) \times 100$$

Distribución de los animales recién paridos primer parto.

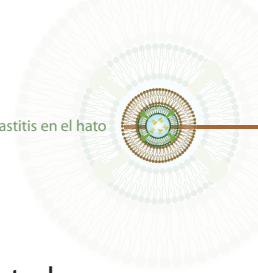
ITEM	No.	%	
Vacas Sanas	1 (Vaca # 1)	100%	% Vacas Sanas
Vacas Nuevas			% Vacas Sanas

Figura 1. Ejemplo de hoja de cálculo con información para el seguimiento de mastitis

Fuente: elaboración propia. Descargue la hoja de cálculo con la información necesaria para hacer el seguimiento y cálculo adecuado en el Anexo 2, disponible en:

<https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/343363/20803363>

- **Vaca recuperada:** con ≤ 100.000 CS para vacas de primer parto en el último control y > 100.000 en el control anterior; para las vacas de más de un parto ≤ 200.000 CS en el último control y > 2000.000 CS en el control anterior.
- **Vaca nueva:** para las vacas de primer parto > 100.000 CS en el último control y ≤ 100.000 CS en el control anterior. Para las vacas de más de un parto > 200.000 CS en el último control y ≤ 200.000 en el control anterior.



Después de revisar el RCS, se puede conocer el o los cuartos afectados a través del CMT. Este resultado también se consigna en la tabla de Excel (Gerlach et al., 2009; Morales et al., 2014). Es importante saber cuál es el patógeno que está actuando en las vacas afectadas, por lo que resulta necesario tomar una muestra (ver Capítulo II). Como se puede ver en el Anexo 2, una vez la hoja tiene toda la información, se hace la gráfica que muestra la distribución de las vacas en sanas, crónicas, recuperadas y nuevas. Estas gráficas muestran comparativamente si las medidas tomadas entre controles han surtido efecto o no. Para hacer las gráficas en Excel con los 4 cuadrantes se sigue este procedimiento:

- Ir a la barra del Excel y buscar gráficas.
- En gráfica de dispersión sale qué poner en x y qué poner en y.
- En el eje de las x ponga el score lineal anterior.
- En el eje de las y ponga el score lineal actual.
- El punto de corte para los 4 cuadrantes es el score lineal 4 para vacas de más de un parto y de 3 para vacas de un parto.
- Los puntos verdes indican las de primer parto y los azules las de más de un parto.
- Primero señale el score y después inserta. Se señala la columna del score de una tabla y la columna de score de la otra tabla y se ordena graficar.

Las metas que se fijan el propietario, el técnico y el ordeñador pueden compararse mes a mes utilizando la Tabla 1.

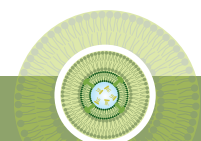


Tabla 1. Interpretación del estado del hato con los resultados del porcentaje de número de infecciones nuevas, crónicas e infecciones de vacas recién paridas.

Estado del hato	Infección intramamaria nueva	Infección intramamaria crónica	Infección intramamaria recién parida
Ideal (%)	≤5	≤5	≤1
Promedio (%)	≤7	≤7	≤1
Malo (%)	>10	>10	>18

Fuente: Flowchart for the analysis of high SCC, QMPS (Cornell University, 2011).

Los costos de la leche **que se ha dejado** de producir debido a las mastitis subclínicas se calculan en el Excel que aparece en el **Anexo 3** (disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/343363/20803364>).

El cálculo se puede hacer a partir del RCS o del CMT.

Una vez se tienen los datos de las vacas afectadas se procede a hacer el análisis de la evolución del RCS o del CMT en cada una de ellas. En la Figura 1 se presenta un flujograma que indica paso a paso cómo procesar los datos y cómo analizar los resultados a partir de la información tabulada como se indica en el Anexo 1.

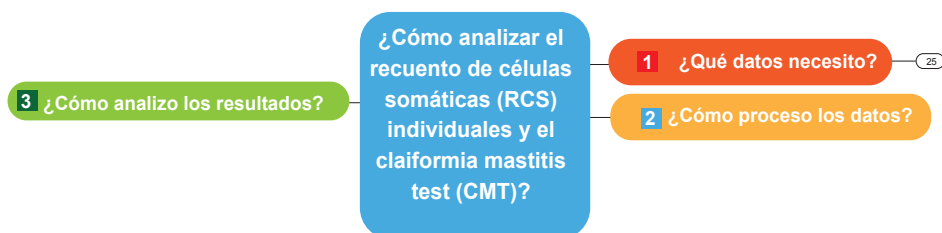
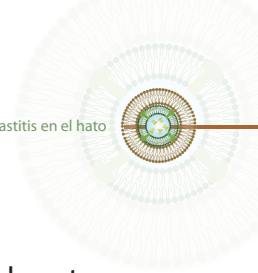


Figura 2. Cómo analizar los RCS y CMT.

Fuente: elaboración propia. **Puede encontrar el flujograma completo en el Anexo 4, disponible en:**

<https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/343363/20803365>



Una vez se han clasificado las vacas con respecto al RCS, se deben tomar decisiones sobre los procedimientos a seguir. La Figura 2 muestra el paso a paso para definir protocolos acordes con el RCS y la evolución de las vacas. Allí se evidencia la eficacia de los procedimientos que se van llevando a cabo mes tras mes (Visio, 2019).

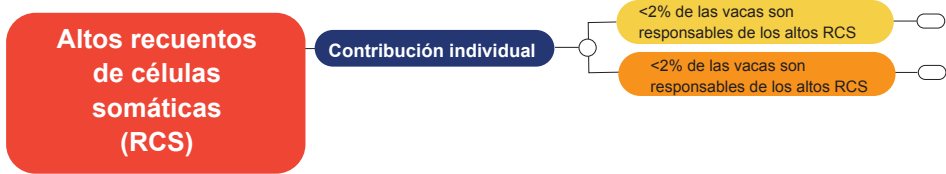
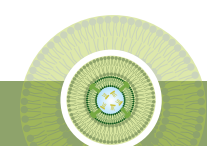


Figura 3. Árbol de decisiones para definir qué hacer con vacas de RCS altos. **Fuente:** elaboración propia, adaptado de Ynte Schukken et al. Quality Milk Production Service, Cornell University, 2011. **Puede encontrar el árbol de decisiones completo en el Anexo 5, disponible en:** <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/343363/20803366>

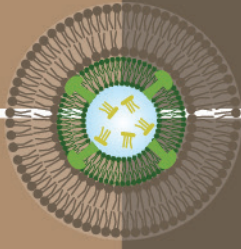
Realizar el control lechero mensual por sí solo no garantiza tener unos bajos niveles de mastitis. El análisis de la información y la toma de decisiones son los factores fundamentales para lograr tener un hato controlado a nivel de glándula mamaria y reducir al máximo las pérdidas económicas que acarrea la enfermedad.

Bibliografía

- Bonifaz, N. & Conlago, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 24(2), 43-52.
- Franzoi, M. Manuelian, CL., Penasa, M. & De Marchi, M. (2020). Effects of somatic cell score on milk yield and mid-infrared predicted composition and technological traits of Brown Swiss, Holstein Friesian, and Simmental cattle breeds. *Journal of dairy science*, 103(1), 791-804.



- Gerlach, B., Arturo, F.A., Denogean, F., Moreno, S., Gerlach, B. & Ernesto, L. (2009). Incidencia y costo de la mastitis en un establo del municipio de Santa Ana, Sonora. *Revista mexicana de agronegocios*, 24(1345-2016-104255), 789-796.
- Cornell University, Flowchart for the analysis of high SCC, QMPS (2011) Recuperado el 20 de julio de 2020. <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/programs/quality-milk-production/services>
- Morales, S.M., Rodríguez, N., Vásquez, J.F. & Angel, M.O. (2014). Influencia de la práctica de ordeño sobre el recuento de células somáticas (RCS) y unidades formadoras de colonias (UFC) en leche bufalina. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1), 189-196.
- Pantoja, J., Correia, L., Rossi, R. & Latosinski, G. (2020). Association between teat-end hyperkeratosis and mastitis in dairy cows: A systematic review. *Journal of dairy science*, 103(2), 1843-1855.
- Reyes, J., Sanchez, J., Stryhn, H., Ortiz, T., Olivera, M. & Keefe, G. (2017). Influence of milking method, disinfection and herd management practices on bulk tank milk somatic cell counts in tropical dairy herds in Colombia. *The Veterinary Journal*, 220, 34-39.
- Vissio C, Richardet, M.,Chaves, J.,Larriestra, J. (2019). Preference of veterinarians to select an udder health programme for milk producers. *Veterinary Record Open*, 6:e000313. doi:10.1136/vetreco-2018-000313



Capítulo 5

Evaluación de los tenores de grasa y proteína en la leche

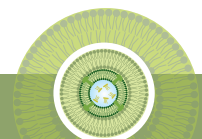
J. Marín¹ MV, MSc., J. Gallo² Zoot, Esp.

1. Introducción

En Colombia el precio de la leche está determinado por su calidad, es decir, por la cantidad de grasa y proteína que contiene. Las concentraciones de ambos componentes pueden modificarse a través del manejo alimenticio, por lo que una interpretación adecuada de los tenores de grasa y proteína para elevar sus concentraciones redundará en mayores ganancias. Considerando esto, es importante para el productor saber cómo interpretar los resultados de laboratorio, hacer las conversiones,

1. Asesor independiente, johanamv@gmail.com.

2. Director de Investigación y Desarrollo en Suplementos Alternativos SAS, Medellín, Colombia, jalberto.gallo@udea.edu.co



calcular cómo le afectará económicamente que los valores aumenten o disminuyan y de cuánto es la bonificación en dinero que recibirá.

Otros parámetros que se calculan o que se miden de rutina en el laboratorio y que contribuyen al mejoramiento de la calidad de la leche son la relación grasa-proteína y el nitrógeno ureico en leche (MUN) (este último se tratará en el capítulo VII). Estos datos permiten evaluar de modo indirecto el balance de la ración ofrecida a las vacas en producción.

Este capítulo muestra cómo hacer la interpretación de los resultados y cómo intervenir la ración de las vacas con el fin de aumentar las concentraciones de grasa y proteína en la leche.

Los símbolos de las unidades de medida que se usan en este capítulo son:

g= gramos, ml= mililitros, L= litros, \$= pesos colombianos

2. Interpretación de los resultados de grasa

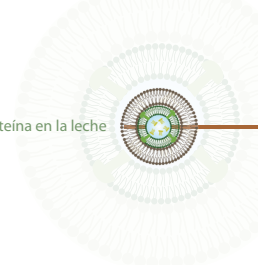
La cantidad de grasa que tiene la leche en el tanque el día en que se toma la muestra se expresa en porcentaje de grasa o en gramos de grasa por cada 100 gramos de leche.

- %: este resultado se refiere a cuántas partes de grasa hay en 100 partes de leche.
- g/100g de leche: este resultado se refiere a qué cantidad de gramos de grasa se encuentran en 100g de leche.

Ejemplo

El resultado que emite el laboratorio es de 3,6% de grasa:

⇒3,6% de grasa es igual a 3,6g de grasa /100g de leche



La resolución colombiana para el pago de leche estipula que se pagará la grasa **en gramos de grasa por litro**. A continuación se explica paso a paso el desarrollo de las fórmulas que determinan la bonificación que se le otorga a un litro de leche dependiendo del tenor de grasa.

En primer lugar, es importante saber cómo hacer la conversión de g a ml, es decir, convertir una medida que viene peso/peso a una medida peso/volumen. Para ello se emplea la densidad de la leche. La densidad es una medida que indica cuántos g de una sustancia están contenidos en un ml de ésta, lo cual varía según la cantidad de sólidos contenidos en ella. Como la leche contiene grasa, proteína, sólidos no grasos, minerales, lactosa y agua, tiene una densidad superior a la del agua que es 1g/ml.

La literatura ha definido la densidad de la leche en 1,032g de leche en 1ml de leche.

Entonces:

3,6g de grasa en 100g de leche

¿A qué volumen equivalen 100g de leche?

1ml de leche \longrightarrow 1,032g de leche

X \longrightarrow 100g de leche

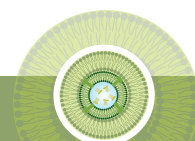
$$x = \frac{100 \text{ g de leche} * 1 \text{ ml de leche}}{1,032 \text{ g de leche}}$$

x = 96,89 ml de leche

Esto significa que 100g de leche equivalen a 96,89 ml de leche.

Entonces:

Teníamos 3,6g de grasa en 100g de leche, lo que significa que hay 3,6g de grasa en 96,89ml de leche.



Como el pago se realiza por g de grasa por L de leche, se averigua cuántos gramos de grasa hay en un litro de leche. 1L es igual a 1000ml

3,6g de grasa 96,89ml de leche

x \longrightarrow 1000ml de leche

$$x = \frac{3,6 \text{ de grasa} * 1000\text{ml de leche}}{96,89 \text{ g de leche}}$$

$$x = \frac{37,15 \text{ de grasa}}{1000\text{ml de leche}}$$

$$x = \frac{37,15 \text{ de grasa}}{1\text{L de leche}}$$

Para saber cuánto es el pago por la cantidad de grasa en la leche se realiza el siguiente cálculo:

1g de grasa en noviembre de 2019 se paga a \$8,04

En un L de leche hay 37,15g de grasa.

1g de grasa/L \longrightarrow \$8,04

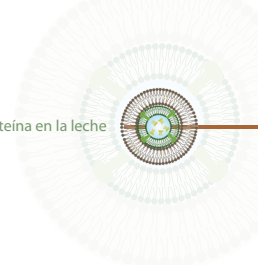
37,15g/L \longrightarrow x

$$x = \frac{37,15 \frac{\text{g}}{\text{L}} * \$8,04}{1\text{g de grasa/ L}}$$

$$x = \$298,68$$

Este es el precio de la bonificación por litro de leche

Si en el día en que se tomó la muestra del tanque para medir la grasa se recogieron 550 litros, entonces la liquidación por grasa será de \$164.142,00 adicional al precio base al cual se liquida el litro de leche producido.



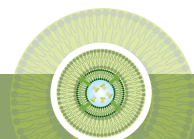
3. Cómo modificar los porcentajes de grasa en leche

En la leche los porcentajes de grasa son variables. En un estudio realizado por Barragán-Hernández y colaboradores (2019) en Colombia, se encontró en cerca de 49.000 pruebas de leche que el 40% de los predios presentan porcentajes de grasa del 3,64% (20.632 pruebas), otro 40% del 2,71% (20.034) y un porcentaje mucho menor de fincas tienen 5.46% (8.357).

Como se desprende de este estudio, un 40% de predios que no obtienen bonificación por el porcentaje de grasa en la leche y un 20% obtienen con una bonificación excelente.

Es importante considerar que el contenido graso de la leche es relativamente fácil de cambiar con la ración, por eso se justifica plenamente invertir en la modificación positiva del tenor de grasa. Para ello, se debe consultar con el técnico nutricionista. En cada etapa de la lactancia los requerimientos son diferentes, por lo cual las acciones son variables. Para modificar positivamente el tenor graso a través de la ración, se recomienda seguir estos pasos:

1. Revisar niveles de fibra requeridos para mantenimiento y producción de leche.
2. Revisar la relación grasa: proteína, esta siempre debe ser 1,2 a 1 (mayor grasa y menor proteína).
3. Para aumentar la producción de grasa en la leche se puede:
 - a. Suplementar una fuente de fibra en la ración para que se mantenga la síntesis de ácido butírico.
 - b. Suplementar con grasa no protegida que escape a la biohidrogenación en el rumen y vaya al intestino. No se deben suplementar más de 250g de grasa/vaca/día, porque el efecto sobre



las bacterias puede ser tóxico o físico pues la grasa forma una película que cubre la fracción fibrosa del forraje, lo cual inhibe el contacto de las bacterias con el forraje.

- C. Suplementar con ácidos grasos protegidos de la fermentación ruminal (*bypass*), que pasan al intestino y se digieren allí.

4. Interpretación de los resultados de proteína

El paso a paso que se sigue para determinar la bonificación que se genera por los tenores de proteína es similar a los de grasa. Sin embargo, la proteína siempre es menor que la grasa. La cantidad de proteína que tiene la leche del tanque se expresa en porcentaje o en gramos de proteína por cada 100 gramos de leche.

- %: este resultado se refiere a cuántas partes de proteína hay en 100 partes de leche.
- g/100g de leche: este resultado se refiere a qué cantidad de g de proteína se encuentran en 100g de leche.

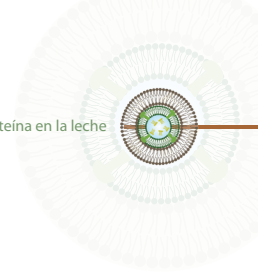
Las cuentas para el pago de la proteína también se hacen en gramos de proteína por litro.

Ejemplo

El resultado del laboratorio arrojó que la leche tiene 3% de proteína. Esto quiere decir que hay 3,0g de proteína en 100g de leche.

¿A qué volumen equivalen 100g de leche?

$$\begin{array}{l} 1 \text{ ml de leche} \longrightarrow 1,032\text{g de leche} \\ x \qquad \qquad \qquad \longrightarrow 100\text{g de leche} \end{array}$$



$$x = \frac{100\text{g de leche} * 1\text{ml de leche}}{1,032\text{g de leche}}$$

$$x = 96,89\text{ml de leche}$$

Esto significa que 100g de leche equivalen a 96,89ml de leche.

Entonces, cuando el resultado del laboratorio arroja que la leche muestreada tiene 3,0g de proteína en 100g de leche, significa que hay 3g de proteína en 96,89ml de leche.

Ahora se requiere saber cuántos g de proteína hay en un L de leche (recordar que un L es igual a 1000ml).

$$3,0\text{g de proteína} \longrightarrow 96,89\text{ml de leche}$$

$$x \longrightarrow 1000\text{ml de leche}$$

$$x = \frac{3,0\text{ de proteína} * 1000\text{ ml de leche}}{96,89\text{ ml de leche}}$$

$$x = 30,96 \frac{\text{g}}{1000\text{ ml}}$$

Pago:

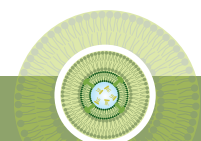
1g de proteína en noviembre de 2019 se paga a \$24,14

En cada litro de leche hay 30,96g de proteína.

$$1\text{g de proteína/L} \longrightarrow \$24,14$$

$$30,96\text{g/L} \longrightarrow x$$

$$x = \frac{37,15 \frac{\text{g}}{\text{L}} * \$24,14}{1\text{g de grasa /L}}$$



$$x = \$747,37 \text{ L}$$

Este es el precio de la bonificación por litro de proteína

Ahora se suman el precio de **grasa por litro** y el precio de **proteína por litro**:

$$x = \$747,37 + \$298,68$$

$$x = \$1046,05$$

Este resultado es el precio de bonificación por litro de leche producida. El resultado se multiplica por el número de litros producidos en el periodo de liquidación.

5. Cómo elevar la concentración de proteína en la leche

En un estudio con 49.330 muestras, Barragán-Hernández y colaboradores (2019) encontraron que el 40% de estas tenían un 3,37% de proteína, otro 40% tenían un promedio de apenas 3,08% y solamente el 20% de las muestras tenían excelente concentración de proteína, a saber 4,01%. Es importante tener en cuenta que aumentar los tenores de proteína a través de la dieta es un poco más difícil que aumentar los tenores de grasa, por ello la bonificación por proteína es mejor paga que la bonificación por grasa.

En los rumiantes, las bacterias del rumen producen sus propias proteínas a partir de los aminoácidos de la dieta. Las bacterias, una vez terminan su ciclo de vida, mueren y pasan al intestino delgado, donde se cortan las proteínas. Los aminoácidos que quedan pasan a través de la pared del intestino a la circulación, y por ende a la glándula mamaria.



Esta, a través de receptores específicos, ingresa los aminoácidos que requiere para la formación de la caseína, la proteína que se encuentra en mayor cantidad en la leche.

Por ello, hay que optimizar el crecimiento y reproducción de las bacterias, fuente de proteína del rumiante, ofreciendo al rumen dos principios nutritivos básicos:

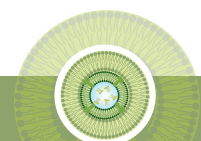
- a. Carbohidratos solubles: almidones y azúcares conseguidos en alimento balanceado (cereales como maíz y azúcares como melaza).
- b. Fuentes de nitrógeno solubles: las proteínas están constituidas por aminoácidos formados por nitrógeno. Las fuentes son **amoníaco** que proviene de la degradación proteica del forraje y la **urea**.

La proteína sobrepasante preformada también contribuye: si bien no busca el crecimiento microbial, da una oferta directa de aminoácidos a la glándula mamaria, como fuente para las proteínas lácteas. Por ejemplo, las tortas de oleaginosas como soya, girasol y algodón.

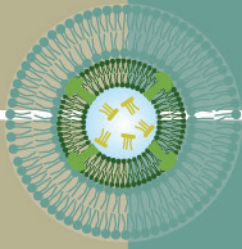
Como lo demostraron Duque & Olivera-Angel (2019), si se modifican las dietas en los rumiantes, teniendo en cuenta los aminoácidos que las bacterias usarán en la producción de su proteína, se puede mejorar el tenor en la leche.

Bibliografía

- Barragán-Hernández, W., Mahecha-Ledesma, L., Angulo-Arizala, J. & Olivera-Angel, M. (2019). Caracterización y clasificación de la calidad composicional de la leche de búfalo (*Bubalus bubalis*) y de vaca (*Bos spp.*) en Colombia/Characterization and classification of the compositional quality of milk from river buffaloes (*Bubalus bubalis*) and cows (*Bos spp.*) in Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 66(1).



- De Ruiz, C.D.G., Torres, E.G. & Quintero, N.Z. (2013). Parámetros físico-químicos de leche cruda. *Revista de Producción Animal*, 25(1).
- Duque, M. & Olivera-Angel, M. (2019). Feeding Protected Lysine and Methionine Modifies Milk Protein Profile in Grazing Dairy Cows. *Agricultural Sciences*, 10(02), 214.
- Duque, M., Olivera, M. & Rosero, R. (2011). Metabolismo energético en vacas durante la lactancia temprana y el efecto de la suplementación con grasa protegida. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(1), 74-82.
- Duque, M., Rosero, R., Gallo, J. & Olivera, M. (2013). Efecto de la suplementación con grasas protegidas sobre parámetros productivos y reproductivos en vacas lactantes. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3812-3821.
- Henao-Velásquez, A.F., Múnera-Bedoya, O.D., Herrera, A.C., Agudelo-Trujillo, J.H. & Cerón-Muñoz, M.F. (2014). Lactose and milk urea nitrogen: fluctuations during lactation in Holstein cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9), 479-484.
- Hof, G., Vervoorn, M., Lenaers, P. & Tamminga, S. (1997). Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3333-3340.
- Jurado-Gómez, H., Muñoz-Domínguez, L., Quitiaquez-Montenegro, D., Fajardo-Argoti, C. & Insuasty-Santacruz, E. (2019). Evaluación de la calidad composicional, microbiológica y sanitaria de la leche cruda en el segundo tercio de lactancia en vacas lecheras. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 66(1), 53-66.



Capítulo 6

Hipercetonemia y la evaluación de los niveles de Beta-hidroxibutirato (BHB) y Acetona (Ac) en leche

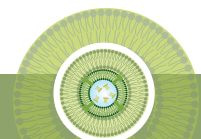
O.F. Huertas-Molina¹ MVZ, MSc., M. Olivera-Angel² MV, Dr.Sci.Agr., J.L. Zambrano-Varón³ DVM, MPVM, PhD, Dipl ACT.*

1. Introducción

La hipercetonemia es una de las condiciones metabólicas más frecuentes y costosas que afectan la industria lechera. Se define por las eleva-

-
1. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, Centro de Investigación El Nus, Antioquia; Grupo de investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, felipe.huertas@udea.edu.co
 2. Grupo de investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, martha.olivera@udea.edu.co
 3. Grupo de Reproducción Animal y Salud de Hato, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, jlzambranov@unal.edu.co

* Los resultados de este capítulo hacen parte del proyecto Innovación ciencia y tecnología para los productores de leche en la provincia de Ubaté - Cundinamarca. Seguimiento



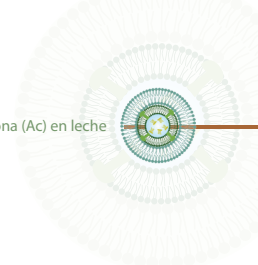
das concentraciones de cuerpos cetónicos (Beta-hidroxibutirato (β HB o BHB), Aceto-acetato y Acetona (Ac)) circulantes (Coburn et al, 2017; Huertas-Molina et al, 2020b) y es causada por un desbalance energético en la ración. Estos metabolitos en concentraciones elevadas deprimen la gluconeogénesis, el consumo de alimentos y el sistema inmune (Gross & Bruckmaier, 2019) y pueden intoxicar al animal. Su diagnóstico se basa principalmente en la concentración de BHB (Benedet et al, 2019).

Esta enfermedad produce pérdidas económicas visibles y no visibles. Las visibles son aquellas en que la vaca sufre de cetosis clínica y se observan signos como aliento a acetona, deshidratación, cambios en el comportamiento y disminución del consumo. En casos severos se puede observar postración o sintomatología nerviosa como lameteo constante, ceguera aparente y ataxia (Garzon & Oliver, 2018). Esta presentación de la enfermedad requiere intervención veterinaria.

Las pérdidas económicas no visibles son aquellas que pasan desapercibidas y se producen cuando el animal no presenta síntomas clínicos, pero pierde en alguna medida el apetito y produce menos leche y de una calidad diferente (Vanholder et al, 2014). Esta forma de presentación puede afectar a más del 40% del hato lechero, especialmente durante la lactancia temprana (Gordon et al, 2013).

Los animales con cetosis subclínica tienen un riesgo elevado de tener menor producción de leche (Saborío-Montero et al, 2013) y padecer una o más enfermedades del posparto temprano (Suthar et al, 2013; Huertas-

Reproductivo. Gobernación de Cundinamarca - Secretaria de Ciencia Tecnología e Innovación (2018), y del trabajo de maestría de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, financiado por la convocatoria N° 751 de 2016 de COLCIENCIAS, titulado: "Concentraciones séricas de BHB y su asociación con enfermedades del posparto temprano en bovinos de leche" (2017-2019)



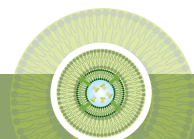
Molina et al, 2020a) como metritis (Compton et al, 2015), desplazamiento de abomaso (Duffield et al, 2009), retención de placenta (Garzon & Oliver, 2019; Huertas-Molina et al, 2020a) y fiebre de leche (Huertas-Molina et al, 2020a). Además, tienen mayor riesgo de presentar problemas relacionados con las tasas de concepción (Duffield et al, 2009; Ospina et al, 2010).

La disminución temporal en la producción láctea causada por la cetosis subclínica no suele ser valorada por el productor, debido a que generalmente pasa desapercibida. Por esta razón, la medición de cuerpos cetónicos ha sido usada como un indicador de hiperconetemia y balance energético negativo (BEN), dado que sus niveles circulantes pueden ser detectados tanto en plasma, como en orina (Campos et al, 2005) y leche (Gross & Bruckmaier, 2019), pues son excretados por estas vías.

Por lo anterior es conveniente utilizar un sistema de vigilancia de la enfermedad a nivel de hato que permita alertar la posible presencia de esta mediante análisis de laboratorio (Caldeira et al, 2020) de las concentraciones circulantes de BHB en leche (Tatone et al, 2016).

2. Medición de BHB y Ac

La lipólisis desencadenada durante el periodo de transición hace que el hígado de la vaca oxide el 90% de los ácidos grasos no esterificados (NEFAS) que provienen de la grasa corporal y los transforme en cuerpos cetónicos, principalmente en BHB, en la mitocondria del hepatocito. Los cuerpos cetónicos son usados como fuente alterna de energía en el hígado y los tejidos extrahepáticos, como la glándula mamaria, el tejido muscular y el sistema nervioso. Cuando el animal presenta un exceso de estos, no pueden ser metabolizados y se incrementan las concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos, lo que indica hiperconetemia o indirectamente cetosis (Cetosis Tipo I) (Huertas-Molina et al, 2020b).



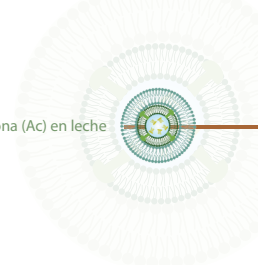
Cuando la vaca cuenta con reservas excesivas de grasa durante el periodo de transición, no puede oxidar todos los NEFAS y estos son reesterificados a triglicéridos (TAG) en el hígado. A su vez, la poca cantidad de lipoproteínas hepáticas en el bovino limita el transporte de TAG y favorece la acumulación de grasa en el hígado (hígado graso), predisponiendo al animal a presentar hipercetonemia (Cetosis tipo II) ante cualquier estímulo de lipólisis (Garzon & Oliver, 2019; Huertas-Molina et al, 2020b).

La medición de cuerpos cetónicos en leche es una herramienta fácil de usar en tanto:

- Se puede hacer durante el ordeño.
- Solo requiere un frasco de recolección de muestra.
- Se lee rutinariamente en los laboratorios de leche acreditados.

Los niveles normales de BHB y de Ac en leche deben ser ≤ 0.14 mmol/L y ≤ 0.1 mmol/L, respectivamente. El punto de corte óptimo para determinar la hipercetonemia subclínica en leche es de BHB ≥ 0.14 mmol/L, con una sensibilidad de 81% y especificidad de 92% (Renaud et al, 2019). Aquellos casos de hipercetonemia con concentraciones de BHB ≥ 0.2 mmol/L se consideran como casos de cetosis clínica (Santschi et al, 2016; Gruber & Mansfeld, 2019). Para el caso de la Ac, se ha observado que los niveles ≥ 0.1 mmol/L en leche sirven como indicador de cetosis subclínica (De Roos et al, 2007; Heuer et al, 2001a). Según Denis-Robichaud y colaboradores (2014), cuando se usa equipo FTIR en la medición de BHB y de Ac en leche se tiene una sensibilidad del 84 y el 87% respectivamente y una especificidad del 96 y el 95% respectivamente.

La medición rutinaria de niveles de BHB entre hatos lecheros se hace en su mayoría mediante el uso de espectroscopia infrarroja transformada

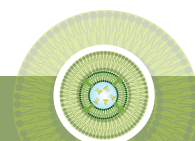


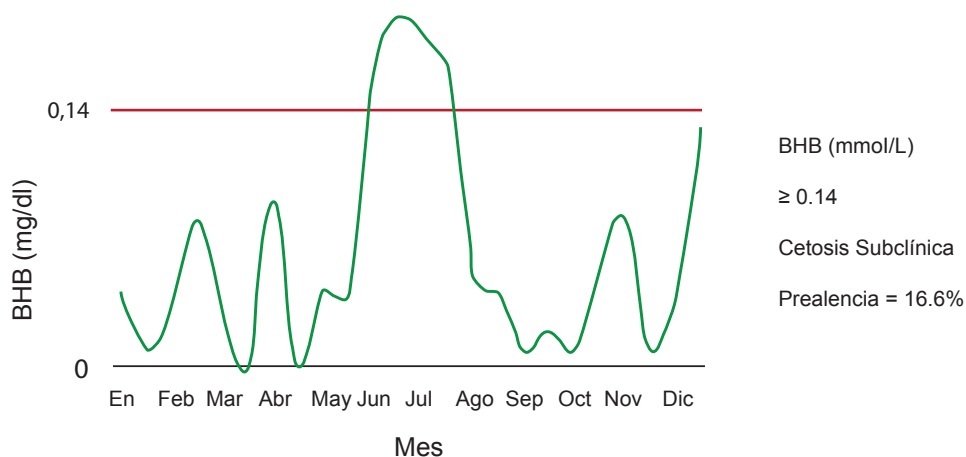
de Fourier (FTIR). Aunque la correlación entre este método de medición y la medición directa en sangre entera mediante el uso de medidores electroquímicos portátiles es muy baja ($r=0.37$, $P < 0.0001$) (Caldeira et al, 2020), los resultados de Denis-Robichaud y colaboradores (2014) demuestran que se pueden usar los métodos FTIR ya que arrojan resultados confiables a nivel de hato.

La medición de Ac también se hace con FTIR y su correlación con las concentraciones plasmáticas es más baja ($r=0.12$, $P < 0.0001$), sin embargo, se puede considerar como un indicador adicional al BHB a nivel de hato (Caldeira et al, 2020).

La Figura 1 presenta resultados del seguimiento durante un año de un hato en muestras de leche de tanque, en ellos se puede observar la variación en las concentraciones de BHB. El promedio anual fue 0.06 mmol/L , valor que es insuficiente para crear una alarma ya que se encuentra dentro del rango normal. El hato mostró una prevalencia anual del 16.6% de predios con valores por encima de lo normal durante los meses de junio a agosto, lo que sugiere que un mayor número de animales podrían estar presentando cuadros de cetosis clínica o subclínica. Para confirmar el significado de esta alerta es necesario identificar los casos individuales por su sintomatología y realizar pruebas de BHB individual, preferiblemente en sangre (Figura 1).

A partir de los controles lecheros también se pueden revisar las vacas que están entre el día 1 y el día 100 posparto, como se muestra en la Figura 2. En la gráfica, que ilustra un estudio con una población de 53 vacas, se puede ver la curva de lactancia y los días durante el posparto en los que se presentan niveles de BHB y Ac por fuera de lo normal, es decir $\beta\text{HB} \geq 0.14 \text{ mmol/L}$ y $\text{Ac} \geq 0.1 \text{ mmol/L}$.





* la línea roja corresponde al punto de corte al cual la concentración de BHB ≥ 0.14 (mmol/L) a la cual se define hipercetonemia.

Figura 1. Distribución quincenal de las concentraciones de BHB (mmol/L) en un hato tomadas en leche de tanque durante un periodo de un año.

Fuente: elaboración de Zambrano-Varón, a partir de datos sin publicar.

Estas observaciones son importantes en la toma de decisiones sobre la alimentación, especialmente en los primeros 20 días posparto.

En otro seguimiento realizado en animales en el primer tercio de la gestación (días 0 a 90) (Figura 3), se pudo observar una prevalencia del 5.6% de animales con cetosis clínica (puntos rojos), de acuerdo con la prueba ($BHB \geq 0.2$ (mmol/L)), y del 17.8% de cetosis subclínica ($BHB \geq 0.14 - 0.20$ mmol/L). Hay una prevalencia total de hipercetoimía del 23.4% para una prevalencia total de hipercetonemia del 23.4%. La alta prevalencia de animales con concentraciones de $BHB \geq 0.14$ mmol/L durante el primer tercio de la lactancia indica que hay que revisar los factores que inducen BEN severo, además de evaluar el manejo de la alimentación durante la transición y hacer los correctivos necesarios. Los ha-

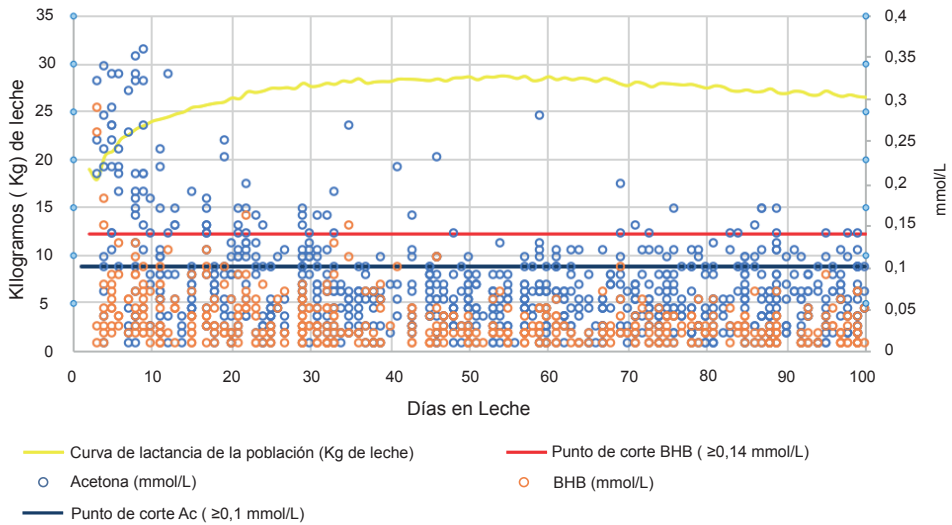


Figura 2. Curva de lactancia y los niveles de BHB y Ac del hato.

Fuente: elaboración de Huertas-Molina con datos suministrados por el departamento de Haciendas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

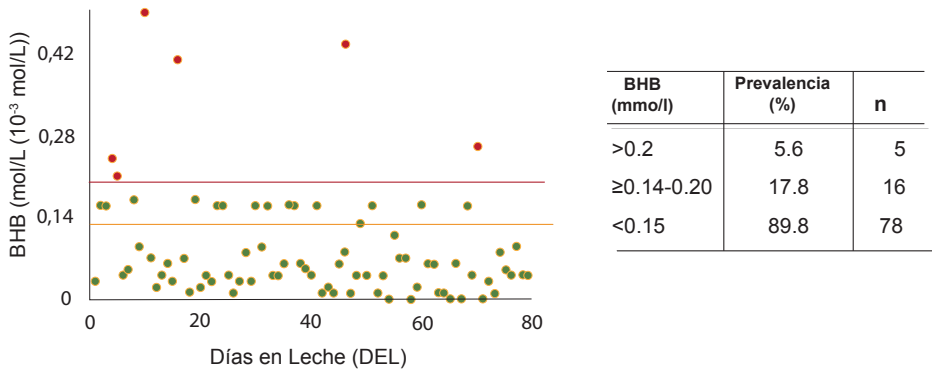


Figura 3. Distribución de la variación individual de la concentración BHB (mmol/L) individual en leche en un hato lechero (n= 99).

Fuente: elaboración de Zambrano-Varón, a partir de datos propios sin publicar.

tos con una prevalencia superior al 15-20% de concentraciones de BHB ≥ 0.14 mmol/L en la lactancia temprana tienden a mostrar baja eficiencia reproductiva, menor producción de leche, pérdida severa de condición corporal y una mayor tasa de descarte (McArt et al, 2013).

Se encuentran diferencias significativas ($P < 0.05$) cuando se hacen categorías de los animales en el posparto. Siguiendo lo reportado por Santschi y colaboradores (2011) y Vanholder y colaboradores (2014), se comparan los valores medios de parámetros como producción de leche, proteína y grasa entre los animales que presentan niveles anormales de Ac y los que están dentro de la norma (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Comparación de valores de medios de producción de leche (PL) en vacas con y sin niveles elevados de Ac en 53 vacas el día del control lechero.

Variables	Positivas Ac ≥ 0.1 mmol/L		Negativas Ac ≤ 0.1 mmol/L	
	Me PL	DE	Me PL	DE
≤ 20	27.79 ^a	6.08	27.29 ^a	5.92
21 – 40	29.01 ^a	6.9	31.49 ^b	5.50
> 40	30.08 ^a	5.77	31.94 ^a	6.33

*Diferencias en letras de superíndices muestran diferencias significativas mediante la prueba Kruskal-Wallis; $P < 0.05$. Me: mediana, PL: producción de leche.

Fuente: elaboración de Huertas-Molina con datos suministrados por el departamento de Haciendas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

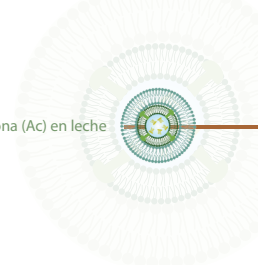


Tabla 2. Comparación de valores medios de porcentaje de grasa de la leche en 53 vacas con y sin niveles elevados de Ac el día del control lechero.

Variables	Positivas Ac ≥ 0.1 mmol/L		Negativas Ac < 0.1 mmol/L	
	Me Grasa	DE	Me Grasa	DE
≤ 20	3.91 ^a	0.93	3.56 ^b	0.86
21 - 40	3.45 ^a	1.08	3.28 ^a	0.71
> 40	2.97 ^a	0.97	3.13 ^a	0.82

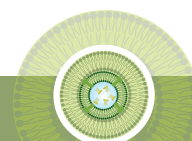
*Diferencias en letras de superíndices muestran diferencias significativas mediante la prueba Kruskal-Wallis $P < 0.05$. Me: mediana

Fuente: elaboración de Huertas-Molina con datos suministrados por el departamento de Haciendas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

3. Factores de riesgo asociados a concentraciones altas de BHB o Ac en leche

Se han realizado diferentes estudios sobre los factores que pueden estar asociados a que la vaca presente niveles de BHB o de Ac superiores a los normales en el posparto temprano. Algunos de estos parámetros son:

- Condición corporal de la vaca cerca al parto mayor o igual a 3.5 (Huertas-Molina et al, 2020a)
- Vacas que tienen más de dos partos. En Colombia se ha observado prevalencia de cetosis del 2.8 - 5.3% en hembras de primer parto, 8.7 - 10.5% de segundo parto y 10% - 48.5% de tres o más partos (Garzon & Oliver, 2019; Huertas-Molina et al, 2020a).
- Vacas de alta producción (Baird, 1982; Heuer et al, 2001b; Saborío-Montero & Sánchez, 2013; Mann et al, 2019).



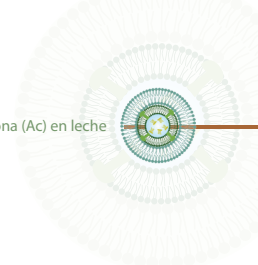
- Historial de enfermedades como retención de placenta (Garzon & Oliver, 2019; Huertas-Molina et al, 2020a), fiebre de leche (Huertas-Molina et al, 2020a), metritis (Garzon & Oliver, 2019), mastitis (Leslie et al, 2000; Suriyasathaporn et al, 2000; Berge & Vertenten, 2014) o desplazamiento de abomaso (Duffield et al, 2009).

Teniendo en cuenta esto, es posible:

- a. Determinar los factores nutricionales relacionados con la prevalencia de cetosis clínica y subclínica.
- b. Evaluar el hato posparto en cuanto a posibles casos de cetosis clínica o subclínica y revisar la alimentación de las vacas en el primer tercio de la lactancia.
- c. Determinar qué tipo de vacas (clasificadas según número de partos o días en leche) requieren intervención.
- d. Estar alerta con las vacas recién paridas porque podrían sufrir, además de cetosis, enfermedades del puerperio temprano.

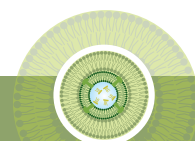
4. Acciones que se deben tomar con niveles en hato superiores a los normales

Siempre que se encuentren niveles superiores a los normales de BHB o de Ac se debe consultar al médico veterinario, quien debe buscar la evidencia y registros de signos clínicos de cetosis u otras enfermedades del posparto. Además, se debe evaluar con el técnico especializado las raciones de los animales para proveer una dieta balanceada (Barragán-Hernández, 2019).



Bibliografía

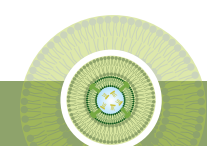
- Baird, G.D. (1982). Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of Dairy Science*, 65(1), 1-10.
- Berge, A.C. & Vertenten, G. (2014). A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of dairy science*, 97(4), 2145-2154.
- 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
- Caldeira, M.O., Dan, D., Neuheuser, A.L., Stürmlin, R., Weber, C., Glauser, D.L., et al. (2020). Opportunities and limitations of milk mid-infrared spectra-based estimation of acetone and β -hydroxybutyrate for the prediction of metabolic stress and ketosis in dairy cows. *Journal of dairy research*, 1-8.
- Campos-Gaona, R., Díaz-González, F., Coldebella, A. & Lacerda, L.D.A. (2005). Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite 1. *Archives of Veterinary Science*, 10(2), 49-54.
- Coburn, A.D., Adams, H.A., Chandler, T.L., Oetzel, G.R., White, H.M. & Fourdraine, R.H. (2017). Prevalence and impact of subclinical ketosis on lactation in US dairy cows. *ICAR Technical Series*, (21), 41-45.
- Compton, C.W.R., Young, L. & McDougall, S. (2015). Subclinical ketosis in post-partum dairy cows fed a predominantly pasture-based diet: defining cut-points for diagnosis using concentrations of beta-hydroxybutyrate in blood and determining prevalence. *New Zealand veterinary journal*, 63(5), 241-248.
- De Roos, A.P.W., Van Den Bijgaart, H.J.C.M., Hørlyk, J. & De Jong, G. (2007). Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of dairy science*, 90(4), 1761-1766.
- Duffield, T.F., Lissemore, K.D., McBride, B.W. & Leslie, K.E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of dairy science*, 92(2), 571-580.



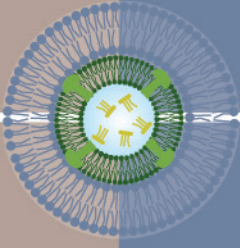
- Denis-Robichaud, J., Dubuc, J., Lefebvre, D. & Des Côteaux, L. (2014). Accuracy of milk ketone bodies from flow-injection analysis for the diagnosis of hyperketonemia in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97(6), 3364-3370.
- Duplessis, M., Santschi, D.E., Plante, S., Bergeron, C., Lefebvre, D.M., Durocher, J. & Cue, R.I. (2019). Milk β -hydroxybutyrate concentration measured by Fourier-transform infrared and flow-injection analyses from samples taken at different times relative to milking. *The Journal of dairy research*, 86(2), 208-210.
- Garzón Audor, A.M. & Oliver Espinosa, O.J. (2018). Epidemiología de la cetosis en bovinos: una revisión. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 13(1), 42-61.
- Garzón-Audor, A. & Oliver-Espinosa, O. (2019). Incidence and risk factors for ketosis in grazing dairy cattle in the Cundi-Boyacencian Andean plateau, Colombia. *Tropical animal health and production*, 51(6), 1481-1487.
- 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.
- Gross, J.J. & Bruckmaier, R.M. (2019). Metabolic challenges in lactating dairy cows and their assessment via established and novel indicators in milk. *Animal*, 13(S1), s75-s81.
- 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-0949-163
- Heuer, C., Luinge, H.J., Lutz, E.T.G., Schukken, Y.H., Van Der Maas, J.H., Wilmink, H. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2001). Determination of acetone in cow milk by Fourier transform infrared spectroscopy for the detection of subclinical ketosis. *Journal of dairy science*, 84(3), 575-582.
- Heuer, C., Wangler, A., Schukken, Y.H. & Noordhuizen, J.P.T.M. (2001). Variability of acetone in milk in a large low-production dairy herd: A longitudinal case study. *The Veterinary Journal*, 161(3), 314-321.
- Huertas-Molina, O., Guzman, V., Palacio, L.G., Zambrano-Varón, J., Olivera-Angel, M. (2020a) Concentraciones séricas de beta-hidroxibutirato y su asociación con enfermedades posparto en bovinos de leche. *Revista MVZ Córdoba*. Aprobado publicación Vol 24 N4



- Huertas-Molina, O.F., Londoño-Vásquez, D. & Olivera-Angel, M. (2020b). Hipercetonemia: bioquímica de la producción de ácidos grasos volátiles y su metabolismo hepático. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 23(1), 1-11.
- Leslie, K.E., Duffield, T.F., Schukken, Y.H. & LeBlanc, S.J. (2000, August). The influence of negative energy balance on udder health. En: National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings (pp. 25-33). Omnipress, Madison, WI.
- Mann, S., McArt, J. & Abuelo, A. (2019). Production-related metabolic disorders of cattle: ketosis, milk fever and grass staggers. *In Practice*, 41(5), 205-219.
- 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.
- Ospina, P., Nydam, D., Stokol, T. & Overton, T.J.J. o.d.s. (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
- 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.
- Saborío-Montero, A. & Sánchez, J.M. (2013). Prevalencia y factores de riesgo relacionados con la cetosis clínica y subclínica tipo I y II en un hato de vacas Jersey en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 37(2), 17-29.
- Santschi, D.E., Lefebvre, D.M., Cue, R.I., Girard, C.L. & Pellerin, D. (2011). Incidence of metabolic disorders and reproductive performance following a short (35-d) or conventional (60-d) dry period management in commercial Holstein herds. *Journal of dairy science*, 94(7), 3322-3330.
- Santschi, D.E., Lacroix, R., Durocher, J., Duplessis, M., Moore, R.K. & Lefebvre, D.M. (2016). Prevalence of elevated milk β -hydroxybutyrate concentrations in Holstein cows measured by Fourier-transform infrared analysis in Dairy Herd Improvement milk samples and association with milk yield and components. *Journal of dairy science*, 99(11), 9263-9270.
- Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E.N. & Schukken, Y.H. (2000). Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Veterinary research*, 31(4), 397-412.



- Suthar, V.S., Canelas-Raposo, J., Deniz, A. & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of sub-clinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(5), 2925-2938.
- Tatone, E.H., Gordon, J.L., Hubbs, J., LeBlanc, S.J., DeVries, T.J. & Duffield, T.F.J.P. v.m. (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.
- Vanholder, T., Papen, J., Bemers, R., Vertenten, G. & Berge, A.C.B. (2015). Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of dairy science*, 98(2), 880-888.



Capítulo

7

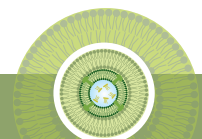
Uso de muestras de leche como indicador de salud y para la vigilancia de enfermedades en el hato

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, jlzambranov@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.

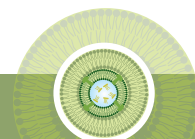


Vale la pena aclarar que la **sensibilidad** de una prueba de diagnóstico es la probabilidad condicional de que el resultado positivo identifique animales verdaderamente infectados, mientras que la **especificidad** es la probabilidad condicional de que el resultado de una prueba sea negativo en los 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).

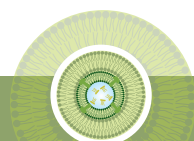
Estas enfermedades repercuten sobre el desempeño reproductivo de los hatos bovinos, lo cual impacta económicamente la empresa ganadera pues afecta positiva o negativamente los costos de producción (Peter, 2000; De Vries, 2006). Se ha descrito extensamente el efecto de algunos patógenos como DVB, HVB-1, 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 **ex-puesto** 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

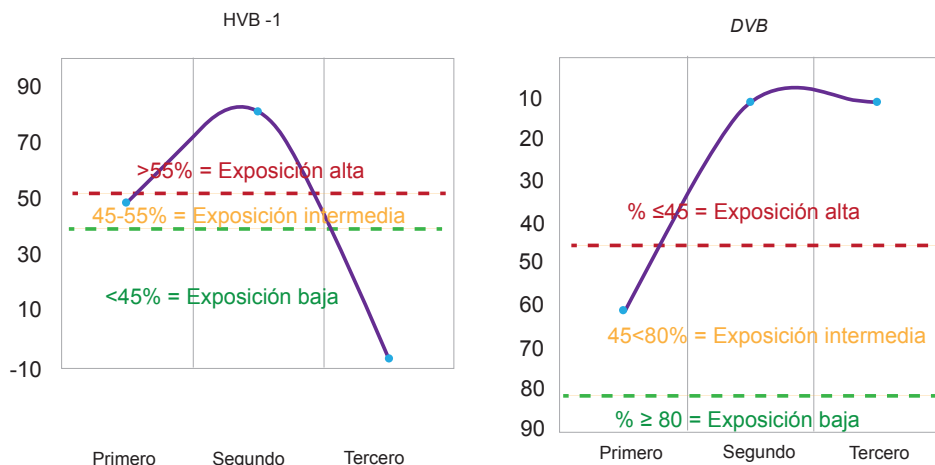
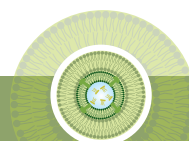


Figura 1. Medición de anticuerpos contra HVB-1 y DVB. Variación trimestral (eje X) del porcentaje de positividad de la prueba versus concentración de anticuerpos (eje Y). Muestras de leche de tanque de diferentes predios (n=46) en un municipio de Cundinamarca.

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.

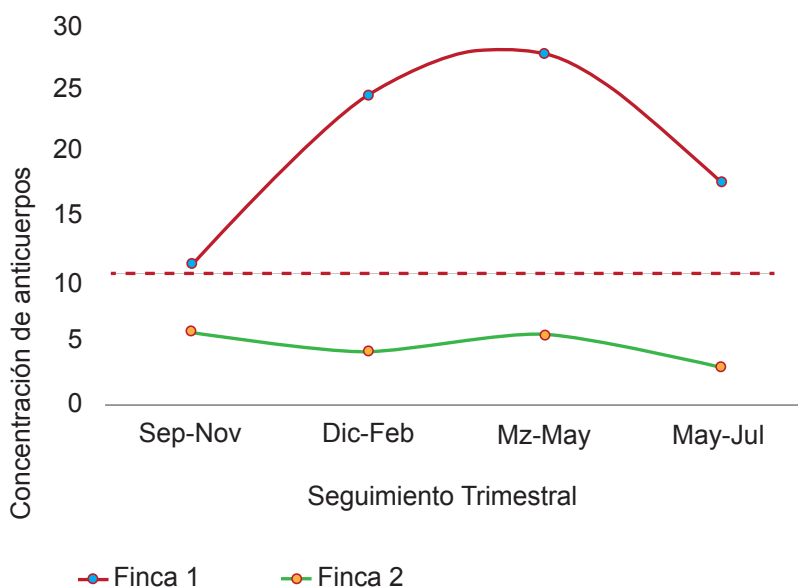
Las alertas pueden ser interpretadas de diferentes formas: 1) algunos de los hatos están utilizando vacunas vivas modificadas, 2) hay hatos abiertos con ingreso de animales en estados de infección no determinados, 3) hay hatos no vacunados con circulación de cepas de campo, 4) hay hatos con presencia 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.

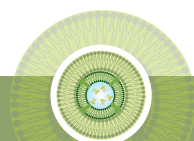
En la Figura 2 se puede ver el resultado del seguimiento de dos fincas. En la Finca 1 (línea roja) los niveles de anticuerpos superan el punto de corte de la prueba durante todo el seguimiento, lo que sugiere una alta exposición a *B. abortus* con comportamiento endémico de la enfermedad. La Finca 2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

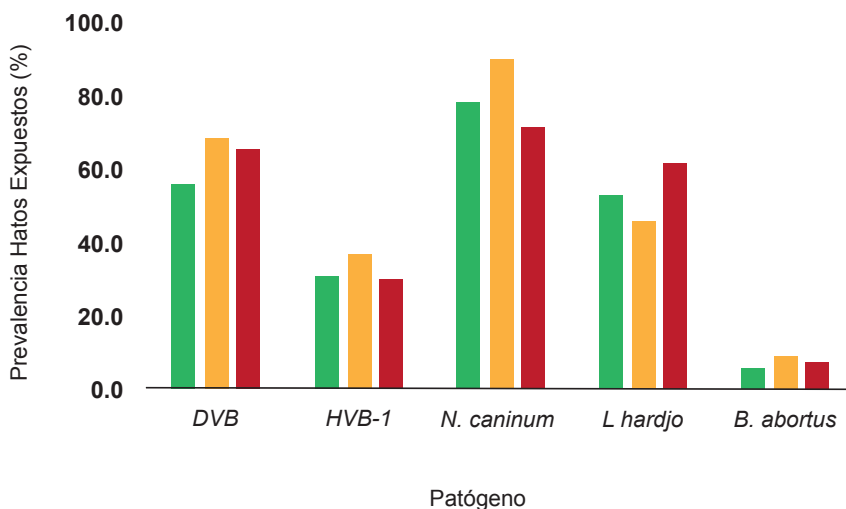
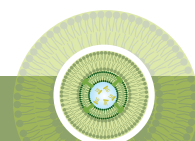


Figura 3. Variación de la prevalencia hatos expuestos a diferentes patógenos evaluados en muestras de leche de tanque (n= 316) en el Departamento de Cundinamarca.

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).

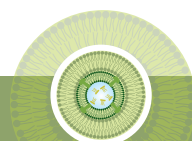


Tabla 1. Asociación entre los niveles de exposición contra diversos patógenos medidos en muestras de tanque de leche (n=95) en un municipio de Cundinamarca y algunos aspectos de bioseguridad de los hatos.

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*
<i>N. caninum</i>	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

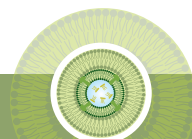


para una mayor exposición al virus de DVB y HVB-1 (RR=7.6, IC 95% (1.7 - 16.7), $p=0.02$, y RR=3.7, IC 95% (1.4 - 10.0), $p=0.01$, respectivamente). Por otro lado, se observó que la baja tasa de descarte posiblemente asociada con retención de hembras con problemas reproductivos fue un factor de riesgo 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.



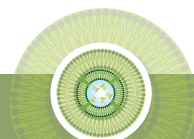
El BEN se relaciona con la dificultad de adaptación a las nuevas necesidades del animal al inicio de la lactancia, como son la creciente demanda de nutrientes, los cambios de manejo, el ingreso a un nuevo grupo etario, los cambios endocrinos y de alimentación. Todo lo anterior modifica la función metabólica 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

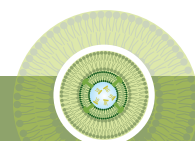


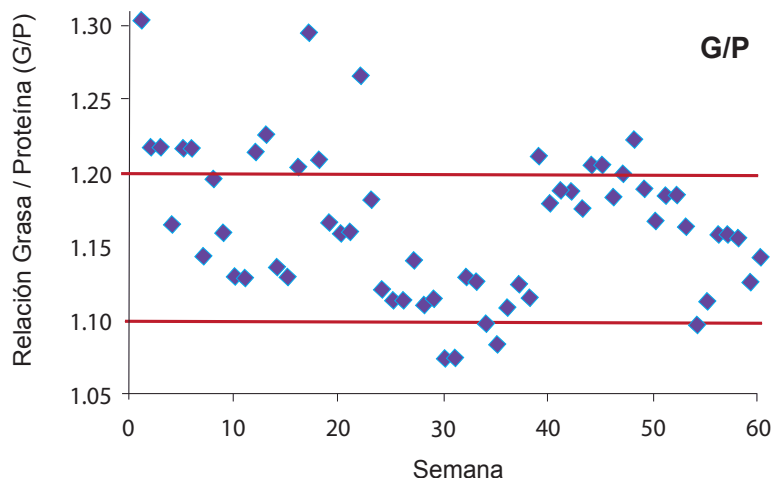
y la reactivación ovárica postparto (Drackley & Cardoso, 2014), la tasa de preñez y el establecimiento de una nueva gestación (Lucy et al., 2014).

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

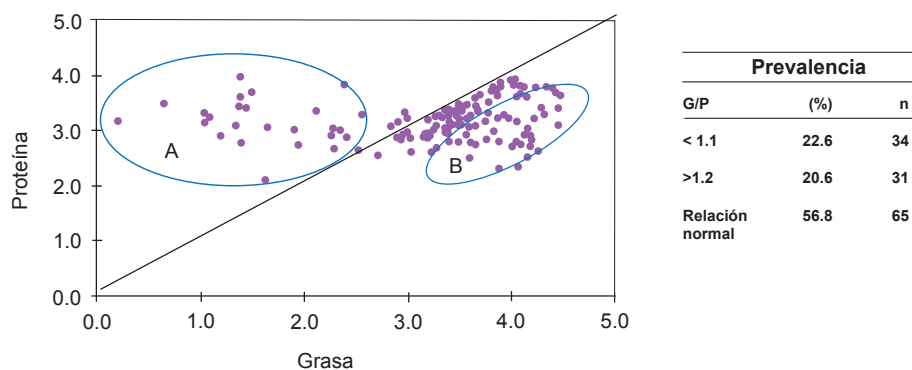


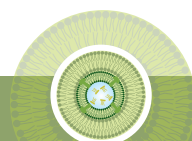
Figura 5. Distribución de la variación individual de la relación entre la grasa y la proteína de la leche en un hato (n=150).

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**.

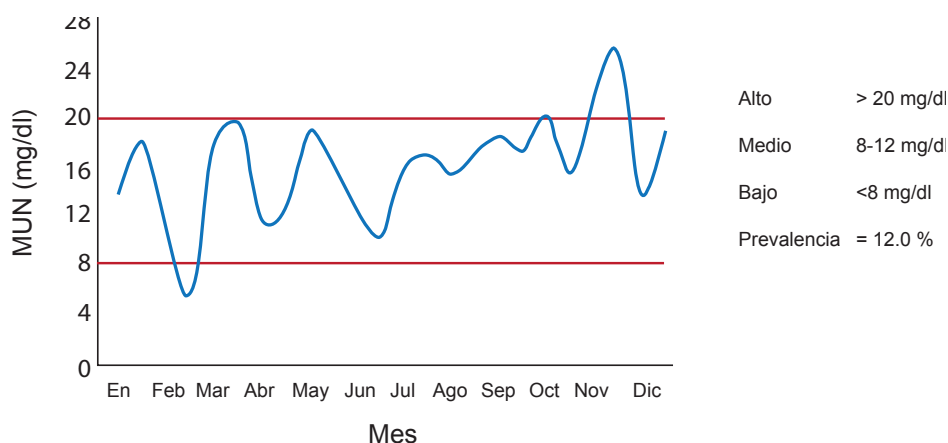
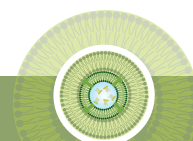


Figura 6. Distribución de la concentración de MUN (mg/dl) en leche de tanque de un hato durante un año.

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.

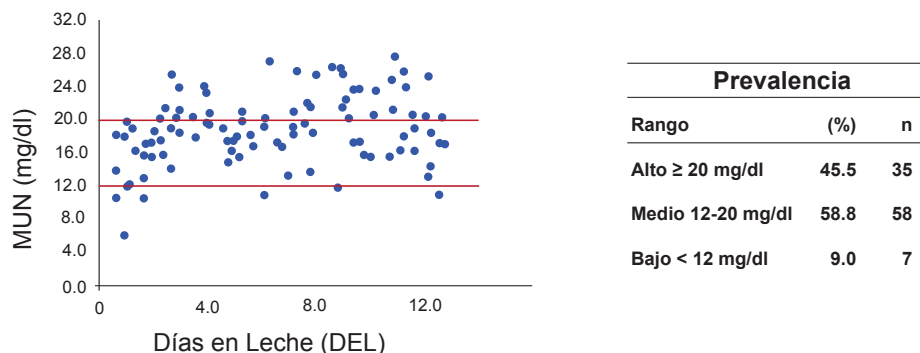


Figura 7. Distribución de las concentraciones individuales de MUN (mg/ mL) en un hato lechero durante el primer tercio de la lactancia (n=100).

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

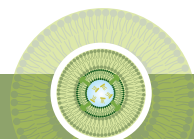
La toma de la muestra requiere una agitación y homogeneización previa de la leche del tanque o de la cantina. Para garantizar la homogeneidad de la muestra, se agitan los tanques pequeños durante 5 minutos o 10 minutos los tanques grandes (ver capítulo II).



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

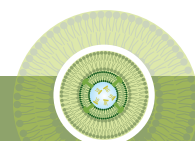


aspectos dinámicos de la transmisión y exposición de patógenos entre hatos o entre los animales de un predio.

- 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

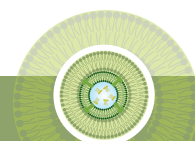
- Abdela, N. (2016). Sub-acute Ruminant Acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: A review of past and recent research at global prospective. *Achievements in the Life Sciences*, 10(2), 187-196. doi:10.1016/j.als.2016.11.006
- Ackermann, M. & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *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



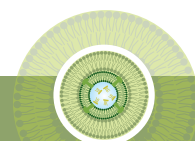
- Cheng, Z., Oguejiofor, C.F., Swangchan-Uthai, T., Carr, S. & Wathes, D.C. (2015). Relationships between circulating urea concentrations and endometrial function in postpartum dairy cows. *Animals: an open access journal from MDPI*, 5(3), 748-773. doi:10.3390/ani5030382
- Christensen, J. & Gardner, 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.



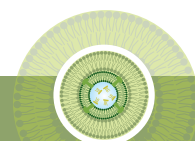
- Huhtanen, P. (1998). Supply of nutrients and productive responses in dairy cows given diets based on restrictively fermented silage. *Agricultural and food science*, 7(2), 219-250.
- Humer, E., Aschenbach, J.R., Neubauer, V., Kröger, I., Khiaosa-ard, R., Baumgartner, W. & Zebeli, Q. (2018). Signals 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



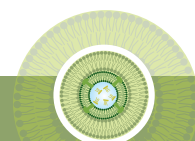
- southern Tohoku, Japan. *Preventive veterinary medicine*, 149, 15-20. doi:10.1016/j.prevetmed.2017.11.008
- Muratore, E., Bertolotti, L., Nogarol, C., Caruso, C., Lucchese, L., Iotti, B. et al. (2017). Surveillance of Infectious Bovine Rhinotracheitis in marker-vaccinated dairy herds: Application of 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.