

**EFFECTO DE LA VACUNACIÓN ANTIAFTOSA SOBRE ALGUNOS
PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y PRODUCTIVOS INDICADORES DE ESTRÉS
EN VACAS LECHERAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ**

Eric Jorg Schachtebeck Rohrbach

Universidad Antonio Nariño

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Maestría en Bienestar Animal

2020

**EFFECTO DE LA VACUNACIÓN ANTIAFTOSA SOBRE ALGUNOS
PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y PRODUCTIVOS INDICADORES DE ESTRÉS
EN VACAS LECHERAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ**



Eric Jorg Schachtebeck Rohrbach

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Magister en Bienestar Animal

Director

PhD., Francisco Javier Vargas Ortiz

Co-Director

MSc., Zoilo Andrés Correa García

Universidad Antonio Nariño

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Maestría en Bienestar Animal

2020

**EFFECTO DE LA VACUNACIÓN ANTIAFTOSA SOBRE ALGUNOS
PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y PRODUCTIVOS INDICADORES DE ESTRÉS
EN VACAS LECHERAS DE LA SABANA DE BOGOTÁ**

Eric Jorg Schachtebeck Rohrbach

TRABAJO DE GRADO APROBADO

Jurado 1 Jurado 2

Jurado 3

Universidad Antonio Nariño

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Maestría en Bienestar Animal

Bogotá, Colombia

2020

*A mi esposa e hijos que me dieron todo su apoyo
y fuerza para la realización de esta maestría y este trabajo*

A mi madre que es el motor de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Señor Miguel Jiménez propietario y colaborador de esta investigación.

Al Doctor Andrés Correa por impulsarme a seguir adelante.

Al Doctor Rómulo Campos por su ayuda en el procesamiento de las muestras.

RESUMEN

El mantener el estatus de Colombia como país libre de Aftosa por vacunación implica enormes esfuerzos gubernamentales de la mano de las asociaciones ganaderas y los laboratorios productores de la vacuna. Sin embargo, algunos reportes de Médicos Veterinarios y propietarios de ganado de leche, sobre efectos negativos de la vacuna en la salud y bienestar de los animales y la productividad de sus hatos, desestiman el uso de este biológico. Basados en esta problemática, se desarrolló este trabajo de investigación para determinar el efecto del proceso de vacunación sobre los niveles de estrés y algunos parámetros sanguíneos y productivos, indicadores de este en vacas lecheras. El trabajo se desarrolló en un hato lechero de la Sabana de Bogotá, ubicado a 2550 m.s.n.m. con temperaturas diarias entre 4 y 20 grados C°. Para el estudio se seleccionaron 40 vacas adultas en producción en forma aleatoria y se asignaron de igual manera, aleatoriamente, a 5 de tratamientos: vacunación intramuscular en cuarto trasero, vacunación subcutánea en la tabla del cuello, inyección de solución salina intramuscular en cuarto trasero, inyección de solución salina en la tabla del cuello y un grupo control sometido al manejo de corral, pero sin inyección alguna. Se analizaron niveles de albúmina, globulina, proteína C reactiva y Cortisol a las 2 horas y las 72 horas posteriores al tratamiento y la producción de leche diaria, desde 48 horas antes del tratamiento hasta 5 días después. Los resultados mostraron un mayor nivel de cortisol plasmático en las vacas vacunadas con inyección subcutánea ($p < 0.05$), un aumento marcado de proteína C reactiva y de globulina a las 72 horas para la vacuna intramuscular y subcutánea ($p < 0.05$). La producción de leche no tuvo cambios significativos durante el tiempo de muestreo. Se concluye que la vacunación por vía subcutánea en la tabla del cuello, genera un mayor estrés, que la vacunación intramuscular en los cuartos posteriores.

Palabras clave: Glosopeda, Inmunización, Vacuna, Bienestar Animal, Cortisol, proteína C reactiva

ABSTRACT

Maintaining Colombia's status as a country free of foot-and-mouth disease by vaccination implies enormous government efforts in the hands of livestock associations and laboratories producing the vaccine. However, some reports from Veterinarians and dairy cattle owners, on the negative effects of the vaccine on the health and well-being of the animals and the productivity of their herds, discourage the use of this biological. Based on this problem, this research work was developed to determine the effect of the vaccination process on stress levels and some blood parameters and productive indicators of this in dairy cows. The work was developed in a dairy herd in the Sabana de Bogotá, located at 2,550 m.a.s.l. with daily temperatures between 4 and 20 degrees C°. For the study, 40 adult cows in production were randomly selected and were assigned in the same way, randomly, to 5 treatments: intramuscular vaccination in the hindquarters, subcutaneous vaccination in the neck table, intramuscular saline injection in the hindquarters, injection of saline solution in the neck table and a control group subjected to pen management, but without any injection. Albumin, globulin, C-reactive protein and Cortisol levels were analyzed at 2 hours and 72 hours after treatment and milk production from 48 hours before treatment to 5 days after. The results showed a higher level of plasma cortisol in the cows vaccinated with subcutaneous injection ($p < 0.05$), a marked increase in C-reactive protein and globulin at 72 hours for the intramuscular and subcutaneous vaccine ($p < 0.05$). The milk production did not have significant changes during the sampling time. It is concluded that vaccination by the subcutaneous route in the neck table generates a greater stress, than intramuscular vaccination in the hindquarters.

KEYWORDS: Glossopeda, Immunization, Vaccine, Animal Welfare, Cortisol, C-reactive protein

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3. OBJETIVOS	4
3.1. Objetivo General	4
3.2. Objetivos Específicos	4
4. JUSTIFICACIÓN	5
5. MARCO TEÓRICO	6
5.1. Fiebre aftosa	6
5.1.1. Etiología	6
5.1.2. Otras características del virus	7
5.1.3. Epidemiología	7
5.1.4. Huéspedes	9
5.1.5. Transmisión	10
5.1.6. Ocurrencia	10
5.1.7. Diagnóstico clínico	10
5.1.8. Hallazgos en Bovinos	11
5.1.9. Diagnóstico diferencial	11
5.1.10. Diagnóstico de laboratorio	12
5.2. Bienestar Animal en hatos de leche	14
5.3. Estrés.	16
5.4. Bienestar Animal en vacas de leche.	18
5.4.1. Criterios medibles de bienestar de ganado vacuno de leche:	18
5.4.2. Recomendaciones de manejo de la OIE	18
5.5. Cortisol	21
5.6. Proteína C reactiva	23
5.6.1. Estructura	23
5.6.2. Funciones	24
5.6.3. Descubrimiento	25
5.6.4. Síntesis	25
5.6.5. Factores que afectan los niveles de RCP en vacas lecheras.	26
5.7. Proteínas Séricas	26
5.7.1. Proteínas totales	26

6. MATERIALES Y MÉTODOS	29
6.1. Diseño	29
6.2. Población y muestra	29
6.3. Materiales	30
6.4. Datos y Análisis Estadísticos	32
7. RESULTADOS	33
7.1. Proteína total.	33
7.2. Albúmina	35
7.3. Globulina	37
7.4. Cortisol	39
7.5. Proteína C Reactiva	41
7.6. Producción de leche	43
8. DISCUSIÓN	44
9. CONCLUSIONES	48
10. RECOMENDACIONES	49
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Concentración promedio de parámetros bioquímicos indicadores de estrés en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa en diferentes sitios	33
Tabla 2 Concentración de Proteína en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1	34
Tabla 3 Concentración de Proteína en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2	34
Tabla 4 Concentración de Albúmina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1	35
Tabla 5 Concentración de Albúmina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2	36
Tabla 6 Concentración de Globulina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1	37
Tabla 7 Concentración de Globulina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2	38
Tabla 8 Concentración de Cortisol en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1	39
Tabla 9 Concentración de Cortisol en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2	40
Tabla 10 Concentración de Proteína C Reactiva en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1	41
Tabla 11 Concentración de Proteína C Reactiva en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2	42
Tabla 12 ANOVA Producción de leche en litros entre el día -2 y el día 5	43

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 2 Proteína total en plasma M1	34
Gráfica 3 Proteína total en plasma M2	35
Gráfica 4 Albúmina en plasma M1	36
Gráfica 5 Albúmina en plasma M2.	37
Gráfica 6 Concentración de la globulina sérica (g/dL) M1	38
Gráfica 7 Concentración de la globulina sérica (g/dL) M2.	39
Gráfica 8 Concentración de la Cortisol (ng/ml) M1.....	40
Gráfica 9 Concentración de la Cortisol (ng/ml) M2.....	41
Gráfica 10 Proteína C reactiva.	42
Gráfica 11 Proteína C reactiva.	43
Gráfica 12 Producción de leche en litros.....	43

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Ubicación focos fiebre aftosa tipo 0 Colombia 2018.....	9
--	---

1. INTRODUCCIÓN

El bienestar de los animales de producción genera un gran reto para los profesionales que trabajan en este campo. Existe un muy delicado equilibrio entre bienestar, buenas prácticas, producción y rentabilidad.

Los Médicos Veterinarios deben propender porque las actividades rutinarias como cambio de potreros, reajustes nutricionales, reorganización de la estructura del hato, ubicación de los sitios de descanso, áreas de manejo y ordeño y rutas de desplazamiento generen el menor malestar a los animales a su cargo.

Faenas obligadas en los hatos lecheros y que involucran a todos los animales son entre otras: la puesta de orejeras o tatuajes, desparasitación y vacunaciones. De estas últimas, su utilización depende de la epidemiología propia del hato o la región, o por ser de carácter obligatorio por ordenanzas gubernamentales.

Entre las vacunas de obligatorio uso en Colombia, se encuentran las que controlan la brucelosis bovina y la Fiebre aftosa. Esta última, de gran importancia política, por tener actualmente un estatus de país libre de la enfermedad por vacunación, bajo los lineamientos de la OIE y por afectar las exportaciones de leche y carne. Por tal motivo, el ICA (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2019), establece dos ciclos de vacunación para Fiebre Aftosa obligatorios dos veces al año y autoriza las vacunas comerciales que pueden ser usadas en el país.

La vacunación de bovinos en general y de vacas lecheras en particular, implica una serie de actividades que alteran la actividad diaria de los semovientes sometidos a esta práctica. En los hatos de leche, la vacunación es usual hacerla al momento del ordeño en sala, pero no es una práctica deseable por la posible reducción en la producción, al alterar la rutina y los tiempos de ordeño. Sin embargo, la otra alternativa que es recoger el ganado en los corrales y su sujeción en los bretes, también genera un cambio en sus hábitos de alimentación y bebida.

Por otra parte, el personal encargado de llevar a cabo los planes de vacunación, son, en la mayoría de los casos, externos a los trabajadores que normalmente manejan las vacas, lo que suma un nuevo factor de estrés a este manejo obligatorio.

Todos los factores enunciados y otros que se escapan del objetivo de este estudio, hacen que aún hoy exista reticencia por parte de muchos ganaderos a la vacunación contra la fiebre aftosa. Reticencia que se extiende, incluso, al momento de conseguir hatos para investigación en este campo.

Por lo tanto, todos los esfuerzos que lleven a entender más la reacción de la vaca, como ser individual y del hato, como unidad de investigación, podrán contribuir a mantener ese equilibrio enunciado en el inicio: bienestar, producción y rentabilidad.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tradición oral de los ganaderos a través de los años, respecto a la reacción de los bovinos en los ciclos de vacunación contra la fiebre aftosa, referencia reacciones como inflamaciones en el sitio de inoculación, disminución del consumo de alimento, depresión, claudicaciones, abortos y reducción en la producción. Teniendo en cuenta estas referencias reportadas, tanto por los ganaderos, como por los médicos veterinarios, surge el cuestionamiento de cuál, o cuales variables, durante la aplicación de la vacuna podrían causar estas reacciones, sobre todo si se reflejan en el descenso de la producción láctea. Por otra parte, en el país hay una población bovina de 26 millones de cabezas de ganado bovino.

¿Es la vacuna contra la fiebre aftosa o el manejo de los animales, el causante de las reacciones reportadas por veterinarios y ganaderos? ¿Genera la vacunación antiaftosa, cuando se aplica por vía intramuscular o subcutánea, algún tipo de estrés en los animales que repercute en su bienestar y producción?

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Analizar el efecto de la vacunación antiaftosa, sobre algunos parámetros bioquímicos y productivos, indicadores de estrés en vacas lecheras de la sabana de Bogotá.

3.2. Objetivos Específicos

- Comparar las concentraciones de cortisol, proteína c reactiva, albumina, y globulina, tras la vacunación antiaftosa por vía intramuscular o subcutánea, en vacas Holstein en producción en la Sabana de Bogotá.
- Comparar la concentración de proteínas plasmáticas (albumina y globulina) post aplicación de la vacuna contra la fiebre aftosa en vacas lactantes
- Evaluar Proteína C Reactiva en plasma de vacas lecheras que hayan sido inmunizados contra la fiebre aftosa por medio de vacuna subcutánea e intramuscular.
- Determinar si la vacunación de aftosa por diferentes vías influencia la producción de leche.
- Evaluar el efecto que causa la vacunación antiaftosa sobre algunos indicadores de estrés en bovinos.

4. JUSTIFICACIÓN

Son varias las razones que impulsan la elaboración de esta investigación a saber:

- La reciente confirmación por parte de la World Organization For Animal Health (OIE) del status de Colombia como país libre de fiebre aftosa con vacunación. (Organización Mundial de Salud Animal, 2018)
- La memoria histórica de los ganaderos, sobre antiguos problemas de reacciones adversas de su ganado, a los vehículos utilizados en las vacunas y la consiguiente reticencia a participar en las campañas obligatorias.
- El pleno convencimiento de ganaderos y algunos profesionales del campo, sin base real, de que la vacunación *per se*, o el manejo de los animales para el efecto, producen un descenso de leche marcado en los días posteriores a su utilización.
- Continuo reporte de inflamación en el área de inoculación y claudicaciones en el miembro donde se inyecta intramuscularmente.
- La imperiosa necesidad de mantener el reconocimiento de país libre de aftosa con vacunación
- Alteración en el bienestar de los animales producido por la vacunación antiaftosa que repercute en su producción y en pérdidas económicas. (Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, 2015)

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Fiebre aftosa

La fiebre aftosa es una de las enfermedades más contagiosas de los mamíferos y posee un gran potencial para causar graves pérdidas económicas en animales ungulados de pezuña hendida, causada por un virus del género *Aftovirus*, de la familia *Picornaviridae*. Existen siete serotipos del virus de la FA, que son O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 y Asia1. En Colombia la fiebre aftosa ingreso en 1950, por el departamento de Arauca, y a partir de este año los serotipos A, O y C han estado presentes. (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2019) (OIE, 2004). En el país existen zonas libres sin vacunación, (Choco y archipiélago de San Andrés y Providencia) que corresponden al 1.5% del territorio nacional, con un 0.22% de la población bovina nacional y la gran mayoría del territorio se encuentra como zona libre con vacunación, siendo un total del 96.84%, albergando una población bovina del 95.94% del total Nacional. (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2019).

En Colombia para controlar la enfermedad y seguir con el certificado de Libre de aftosa con vacunación de la Organización Mundial de Sanidad Animal, OIE, se realizan dos ciclos de vacunación al año, comprendidos entre mayo junio y noviembre diciembre de cada año (OIE, 2019).

5.1.1. Etiología

La aftosa es causada por un virus de la familia *Picornaviridae*, género *Aphthovirus*. Se conocen siete serotipos inmunológicamente distintos: A, O, C, SAT1, SAT2, SAT3 (Iowa State University, 2007), y Asia1 los cuales no confieren inmunidad cruzada. Mutaciones durante la recombinación y replicación generan nuevas variantes constantemente.

5.1.2. Otras características del virus

Temperatura

Es resistente a la refrigeración y congelación, pero se inactiva progresivamente a temperaturas por encima de 50°C. Se inactiva a 70°C durante 30 minutos.

pH

Se inactiva a pH <6.0 o >9.0.

Desinfectantes

Lo inactivan hidróxido de sodio (2%), carbonato de sodio (4%), ácido cítrico (0.2%), ácido acético (2%), e hipoclorito de sodio (3%), entre otros. Es resistente a iodóforos, compuestos de amonio cuaternario y fenol sobre todo en presencia de materia orgánica.

Supervivencia

Sobrevive en los nódulos linfáticos y médula ósea, pero se destruye en el músculo con pH <6.0 es decir, después del rigor mortis. Sobrevive también en medula ósea congelada o ganglios linfáticos. Puede sobrevivir en derivados lácteos producidos con pasteurización tradicional, pero se inactiva con ultra pasteurización. Puede sobrevivir en pasturas por un mes bajo condiciones específicas. (Iowa State University, 2007)

5.1.3. Epidemiología

El ICA, en el primer ciclo de vacunación del 2018, de un total de 615.995 predios fueron vacunados 597.470, para una cobertura de vacunación en predios del 96,5%. La vacunación total de animales fue de 26.872.531 entre bovinos y búfalos de una población total de 27.433.474 para una cobertura de 97,9%.

Para el segundo ciclo se alcanzó una vacunación de 611.611 predios, de un total de 657.039, para una cobertura de 93.0%. En cuanto a bovinos, se vacunaron un total de 27.014.941 de un total de 28.209.222 objeto de vacunación, alcanzando un 95,7% de

cobertura. Los búfalos vacunados fueron 373.148 de un total de 379.867, para un 98,2% de cobertura en esa especie.

Durante los dos ciclos de vacunación se supervisaron 37.024 predios, así como a 6.433 vacunadores. Como resultado de la vigilancia epidemiológica que Colombia realiza, se confirmaron tres (3) focos de fiebre aftosa tipo O, en los departamentos de Boyacá, Cesar y La Guajira. Una vez detectados dichos focos, de manera inmediata se llevó a cabo la notificación ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la cual retiró la aprobación de la zona de contención y suspendió, a partir del 10 de agosto 2018, el estatus de “país que tiene zona libre de fiebre aftosa con vacunación”, que fuese reconocido por la Asamblea mundial de los delegados de la OIE, el 22 de mayo de 2018. Ubicación focos de fiebre aftosa O, municipios de Sogamoso (Boyacá), San Diego (Cesar) y Maicao (La Guajira), con relación a Colombia. En el departamento de Boyacá se registró un foco en el municipio de Sogamoso que involucró una población de 19 bovinos. En el departamento del Cesar se detectó un foco primario con población mixta porcinos y bovinos y cuatro focos secundarios, tres de ellos con compromiso solo de la especie porcina ubicados en zonas urbanas involucrando a 261 bovinos, 519 porcinos y 15 ovinos. En el departamento de La Guajira se identificó un foco primario con población mixta porcinos, bovinos y ovinos en un predio de la comunidad indígena Wayuu y un foco secundario con afectación solo de la especie bovina que involucró una población de 82 bovinos, 80 ovinos y 27 porcinos.

Ilustración 1 Ubicación focos fiebre aftosa tipo 0 Colombia 2018



Fuente: (Dirección Técnica de Vigilancia Epidemiológica , 2016)

- Presenta baja rata de mortalidad en adultos, pero a menudo alta mortalidad en lactantes por miocarditis y por falta de producción láctea de las madres.
- El principal huésped del virus es el bovino, pero se presenta igualmente en cerdos, cabras, ovejas y búfalos domésticos.
- Parecen ser reservorios algunos rumiantes salvajes como búfalos y ciervos. (OIE - World Organization for Animal Health , 2013)

5.1.4. Huéspedes

- Todos los mamíferos domésticos y silvestres de pezuña hendida son susceptibles.
- Los camélidos del viejo mundo pueden ser resistentes a la infección y las llamas y alpacas tienen también resistencia media.

- Al día de hoy los búfalos africanos parecen ser los únicos rumiantes silvestres que juegan un rol importante en la epidemiología de la fiebre aftosa.
- Los chigüiros y los erizos terrestres son potencialmente susceptibles.
- Roedores de laboratorio y armadillos pueden infectarse experimentalmente. (Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 2017)

5.1.5. Transmisión

- Se produce directamente entre animales infectados y susceptibles.
- Contacto de animales susceptibles con fómites
- Consumo por parte de los cerdos de carne contaminada.
- Ingestión de leche contaminada dada a los terneros.
- Semen contaminado en programas de inseminación artificial.
- Inhalación de aerosoles contaminados.
- Partículas transportadas por el aire incluso a distancias de más de 50 kilómetros en tierra y 300 kilómetros en el mar.

5.1.6. Ocurrencia

La fiebre aftosa es endémica en áreas de Asia, África, Medio oriente y Sur América. (OIE, 2019)

5.1.7. Diagnóstico clínico

El período de incubación está entre 12 y 14 días.

La severidad de la enfermedad varía de acuerdo a la cepa viral, la dosis de exposición, la especie, la raza y del estado inmune del animal. (OIE - World Organisation for Animal Health, 2013).

5.1.8. Hallazgos en Bovinos

- Fiebre, anorexia, temblores musculares, reducción en la producción de leche, laminitis y presencia de aftas en labios, lengua, mucosa nasal y área de la corona en las pezuñas y laceraciones en pezones con vesículas en la glándula mamaria.
- Los animales se recuperan pasados 8 a 15 días.
- Animales no tratados pueden presentar complicaciones severas.

5.1.9. Diagnóstico diferencial

- **Diarrea viral bovina :** El Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), perteneciente al género Pestivirus, familia Flaviviridae (Wengler , y otros, 2001), es una infección que afecta a los hatos bovinos con diferentes manifestaciones clínicas que pueden ir desde formas asintomáticas, hasta cuadros agudos de carácter entérico, reproductivo o respiratorio (Fulton, y otros, 2006). Los efectos generados por la enfermedad incluyen bajos índices de crecimiento en terneros (Xue , y otros, 2010), deficiencias reproductivas y susceptibilidad a la presentación de otras patologías.
- **Estomatitis vesicular:** En la especie bovina los síntomas corresponden a fiebre, aftas, vesículas y erosiones en la cavidad oral, pezones y patas, salivación intensa y disminución de la producción. En los équidos (asnos, mulas y caballos) la sintomatología se presenta preferencialmente en los cascos, pudiendo involucrar más de un miembro con la consecuente repercusión en la locomoción. La mayoría de los équidos tienen una presentación subclínica de la enfermedad. En los humanos la enfermedad se caracteriza por un cuadro gripal, fiebre, dolores musculares, dolor de cabeza, y en ocasiones vesículas en los labios, lengua manos y ocasionalmente síntomas nerviosos. (Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, 2019)
- **Rinotraqueitis infecciosa bovina:** La rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad respiratoria aguda y contagiosa del ganado bovino causada por el herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1). Afecta fundamentalmente al aparato respiratorio y al reproductor. (Zoetis Salud Animal, s.f.)

- Lengua azul: La enfermedad se caracteriza por producir procesos febriles con inflamación catarral en las mucosas respiratorias y digestivas, inflamación en las bandas coronarias y láminas sensibles de las pezuñas, así como también degeneración muscular. En la hembra gestante produce placentitis, abortos y malformaciones congénitas. En el macho, infertilidad temporal con debilidad y emanación que dan lugar a una convalecencia prolongada y considerables pérdidas en la productividad. Los animales adultos que se recuperan de la infección generalmente desarrollan inmunidad únicamente a la cepa del virus responsable de la misma, y no son portadores del agente causal. (Escandón Escandón, 2011)
- Ectima contagiosa: comúnmente llamado boca costrosa, es una enfermedad contagiosa causada por un virus del género parapoxvirus. La enfermedad recibe otros nombres tales como: dermatitis pustular contagiosa, estomatitis pustular contagiosa, orf, boca costrosa, estomatitis ulcerativa y boquera. (Luginbuhl, Anderson, & Pietrosemoli, 2009)
- Mastitis: La mastitis bovina es una infección de la glándula mamaria de la vaca que provoca su inflamación. Es una enfermedad que puede ocasionarse por múltiples causas si bien en el 80% de los casos es debida a microorganismos patógenos. Es una enfermedad muy común en las vacas lecheras y causante de pérdidas económicas para el ganadero, debido a que la mastitis bovina afecta a salud del animal y calidad de la leche producida. (Zotal Laboratorios, 2009)
- Fiebre catarral: Se caracteriza por una fiebre elevada, descarga nasal profusa, hiperemia (aumento de sangre en un órgano), necrosis difusa de las mucosas nasal y oral, disminución de leucocitos en la sangre, opacidad de la córnea e inflamación de los ganglios linfáticos. (Contexto Ganadero, 2016)

5.1.10. Diagnóstico de laboratorio

Fijación de complemento ó Elisa

Teniendo en cuenta la naturaleza altamente contagiosa y a la importancia económica de la fiebre aftosa, el diagnóstico de laboratorio y la identificación del serotipo del virus son de gran relevancia, actualmente se recomienda el enzimoimmunoensayo (ELISA), ya que es

más específico y sensible y no se ve afectado por factores pro- y anti-complementarios. Si la muestra es inadecuada o el resultado de la prueba es incierto, será necesario inocular los materiales de prueba en cultivos celulares susceptibles o en ratones lactantes de 2-7 días a fin de amplificar cualquier virus vivo que esté presente. Con preferencia, los cultivos deberían de ser cultivos primarios de tiroides bovino (ternera), aunque se pueden utilizar células de riñón del bovino, o líneas celulares de sensibilidad comparable. Cuando en los cultivos se haya completado un efecto citopático (ECP), se pueden utilizar los sobrenadantes en pruebas de fijación de complemento (FC) o ELISA o mediante por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR).

Las pruebas de reconocimiento de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa, se están utilizando mucho como métodos de diagnóstico rápidos y sensibles. A veces se utiliza el examen por microscopía electrónica para diferenciar la fiebre aftosa de las enfermedades causadas por otros virus.

Pruebas serológicas

Para un diagnóstico positivo, es suficiente la demostración de anticuerpos específicos contra proteínas estructurales en animales no vacunados que presenten una manifestación vesicular. Es útil en casos benignos o cuando no se puede tomar tejido epitelial. Las pruebas para anticuerpos contra algunas NSP (Proteínas no estructurales) del virus de la fiebre aftosa proporcionan evidencia de infecciones previas o actuales del hospedador, independientemente del estado de vacunación. A diferencia de las proteínas estructurales, las NSP se conservan muy bien y, por tanto, no son específicas de serotipo y, en consecuencia, la detección de estos anticuerpos no está restringida a un serotipo particular.

Las pruebas de neutralización del virus (NV) y los ELISA para anticuerpos contra proteínas estructurales se emplean como pruebas serológicas específicas de serotipo. Las pruebas NV dependen de los cultivos de tejidos y por tanto sus resultados son más variables que las pruebas ELISA; son también más lentas y más fáciles de contaminar. Las técnicas ELISA para anticuerpos, presentan la ventaja de la rapidez y de no ser dependientes de los cultivos celulares.

La prueba ELISA se puede llevar a cabo con antígenos inactivados, lo que requiere, por tanto,

menos servicios restrictivos de biocontención. (OIE, 2006)

5.2. Bienestar Animal en hatos de leche

Si bien en la antigüedad parecían confluír visiones opuestas sobre el respeto a la vida animal, no fue sino hasta la industrialización de la posguerra, donde la cría intensiva de animales de abasto atrajo la mirada europea hacia la irracional explotación animal. (Universidad de Antioquia, 2011). El bienestar animal ha sido tema de investigación en las granjas, aumentando en forma indirecta la productividad de los animales (Arraño, Baez, Flor, Whay, & Tadich, 2007).

En los últimos años el enfoque de bienestar ha cambiado de una ciencia animal basada en el incremento de la productividad, a una productividad basada en el respeto al bienestar animal. De esta forma el éxito de la empresa lechera dependerá de la satisfacción de las necesidades básicas de los animales (Albright & Arave, 1997). Los individuos pueden tener una variedad de necesidades, algunas de mayor urgencia y cada una es consecuencia de la biología del animal, pero en general se distinguen necesidades fisiológicas y de comportamiento (Fraser & Broom, 1997).

La más aceptada definición de bienestar animal es la de Broom (Broom, 1991): “estado de un individuo en sus intentos de mantenerse en equilibrio con su ambiente” o la de (Whay, Waterman-Pearson, & Webster, 1997): “cualquier punto de la calidad de vida que pueda tener influencia en el estado físico o mental de un animal”. (Von Keyserlingk, Rushen, & de Passille AM, 2009). En general las definiciones señalan que al evaluar el bienestar animal debemos considerar tres factores importantes, salud, la naturalidad de su vida y su estado mental. Estos estados al sobreponerse constituyen el estado ideal de bienestar, ya que el logro de uno sólo, no garantiza que se haya logrado un estado de bienestar.

El bienestar de un animal de granja depende de su habilidad para mantenerse sano y libre de sufrimiento. La responsabilidad del ganadero es asegurar a sus animales un adecuado bienestar (Webster, 2001). Von Keyserlingk enfatiza en la revisión acerca del bienestar en vacas de lechería enfatizan la evaluación del bienestar basados en aspectos relacionados con la función biológica, el estado afectivo y la naturalidad de las vacas (Von Keyserlingk,

Rushen , & de Pasille AM, 2009). Ellos indican que el bienestar puede ser evaluado basados en las 5 libertades, que indican que los animales deben estar saludables, confortables, bien nutridos, seguros, libres de expresar su comportamiento natural y no sufrir de dolor, miedo o distrés. Como ejemplo singular, (Gregory, 2004) señala que los rumiantes por su producción de saliva, no manifiestan los mismos signos de sed que los monogástricos, lo cual no indica que no sufran de ésta. Las vacas producen unos 6000 litros de leche por lactancia, por lo que el aporte de agua en cuanto a cantidad y calidad es un aspecto de bienestar y productividad.

La salud del rebaño lechero a través de programas de prevención de enfermedades mediante la vacunación o medidas de control y erradicación de enfermedades es una práctica común en los países. Existen, además, algunos procedimientos que se utilizan de rutina en las granjas, que producen dolor y que deberían ser realizados bajo anestesia local. Entre ellos destacan descorne, castraciones, remoción quirúrgica de los pezones supernumerarios y amputación del rabo en las vacas lecheras y ésta última práctica debería ser eliminada, ya que no produce beneficio en cuanto a la limpieza de la ubre, recuento de células somáticas e infecciones intramamarias (Schreiner & Ruegg , 2004) y puede ser reemplazada por el recorte de los pelos de la punta de la cola.

El miedo, entendido como una emoción primaria que se deriva de la aversión natural al riesgo o la amenaza, y se manifiesta en todos los animales, lo que incluye al ser humano. (Wikipedia, s.f.), de acuerdo con (Broom, 1991), puede ser producido por el riesgo de ataque de un predador o por el riesgo de agresiones intraespecíficas. El miedo puede ser, además, consecuencia de manejos desconocidos para el animal, como transporte y manipulación cuyas respuestas pueden ser inmovilizaciones, vocalizaciones, intentos de escape o ataque, o aumento de la frecuencia cardíaca.

Las vacas tienen una zona de fuga (flight zone). Es un espacio que ellas consideran como propio, por lo que cuando un extraño u otro animal entran en él, hace que ésta se aleje. La vaca lechera, por su función, está en directo contacto con el ser humano desde su nacimiento, hasta que comienza su época productiva por lo que su zona de fuga es muy pequeña. De acuerdo con (Grandin, 2002) esta zona está determinada por la docilidad o rusticidad del animal y es afectada por experiencias estresantes previas. Las vacas que son manejadas en forma tranquila permiten que una persona se acerque y en muchos casos

puedan tocarlas. Vacas en sistemas de estabulación tienen zonas de fuga menores que aquellas que están manejadas a campo. Se considera que zonas de fugas menores a 1 metro reflejan ausencia de temor frente a la presencia de los seres humanos y zonas de fugas superiores 2 metros indicarían lo contrario.

(Rushen, De Pasille , & Munksgaard , 1999), describieron que las vacas tienen la habilidad de reconocer al operario que las maltrata y esto disminuye su producción de leche. Esto ha sido corroborado por trabajos realizados por (Hemsworth, Coleman, Barnett , & Dowling, 2002) que demostraron como la producción de leche, proteínas y grasa de las vacas se incrementó posterior a un estudio de intervención donde se mejoraron las actitudes y el trato del personal hacia los animales.

A pesar que las medidas de protección aplicadas para mejorar el bienestar de los animales de granja, son muchas veces consideradas como opuestas a una producción de bajo costo, esto no siempre es así, ya que existen muchas medidas en que el bienestar animal se puede lograr a costos más bajos (Wyss , Wechsler, Merminod, & Jemmi, 2004) o como consecuencia de su mejoría se aumenta la producción.

5.3. Estrés.

El estrés como la respuesta biológica que se presenta cuando un individuo percibe alguna amenaza a su homeostasis (Moberg & Mench, 2000). Según (Selye, 1973) citado por (Caballero & Sumano, 1993), los agentes inductores de estrés son detonadores de respuestas orgánicas capaces de desequilibrar los mecanismos reguladores de la homeostasis. En respuesta a los agentes desencadenantes de estrés aparece el Síndrome General de Adaptación (SGA) con sus tres fases: i) respuesta inmediata mediada por el sistema simpático, ii) resistencia frente a estímulos crónicos, con participación del eje hipotálamo hipofisiario y corteza adrenal y reacción de agotamiento cuando el estímulo crónico sobrepasa los niveles de resistencia que puede terminar con la muerte. Sin embargo, Bohus (Bohus, 1987) indica que las tres fases que se presentan en el SGA de Selye no representan fielmente la realidad en los animales por su percepción de ambiente, estrés y adaptación.

Cuando la respuesta del animal a los factores estresantes pone en riesgo su bienestar, éste pasa a una etapa de distrés (Moberg & Mench, 2000).

De acuerdo con (Mellor, Cook, & Stafford, 2000), un animal entra en un estado de distrés cuando es expuesto a experiencias dañinas que producen respuestas fisiológicas, independientemente de si el estímulo es emocional (miedo); físico (ejercicio intenso) o ambos (dolor). Los estados de distrés son patológicos, a diferencia del estrés que, a pesar de producir cambios fisiológicos, pueden ser positivos desde el punto de vista de actuar como una reacción de defensa del animal, frente a un estímulo que él considera nocivo.

Los estados de estrés, pueden ser medidos a través de variables sanguíneas, sean estas hormonas o metabolitos. La ventaja de estas mediciones es que producen resultados cuantificables. El estrés induce la secreción de catecolaminas en la médula adrenal, corticoesteroides en la corteza adrenal y ACTH en la hipófisis anterior. Los glucocorticoides regulan la síntesis de catecolaminas en la médula adrenal y las catecolaminas estimulan la liberación de ACTH en la hipófisis anterior. Además, existen otras hormonas como el factor liberador de la corticotrofina, el péptido vasoactivo intestinal y la vasopresina arginina, que estimulan la liberación de ACTH, mientras que la somatostatina la inhibe. Estos agentes determinan la respuesta a los distintos factores inductores de estrés (Axelrod & Reisine, 1984).

Entre los indicadores sanguíneos de estrés más comúnmente utilizados tenemos las concentraciones de adrenalina, noradrenalina, factor liberador de corticotropina, cortisol, prolactina, glucosa, ácidos grasos, b-hidroxibutirato, leucocitos y variables fisiológicas como temperatura corporal, frecuencia cardiaca, respiratoria, hematocrito y relación neutrófilos/linfocitos. Estas variables han sido utilizadas frecuentemente para medir estrés por transporte o por manejo en bovinos (Crookshank, Elissalde, White, Clanton, & Smalley, 1979) (Mitchell, Hatting, & Ganhao, 1988) (Warris, y otros, 1995), (Tadich, Gallo, & Alvarado, 2000). Recientemente se ha comenzado a utilizar la medición de haptoglobina, una proteína de fase aguda, unida al grupo hemo, como un indicador de enfermedades. Estudios efectuados por (Horadoga, y otros, 1999) (Humblet, Judong, & Godeau, 2002), demuestran que en bovinos enfermos la haptoglobina es un indicador más preciso y precoz que las células de la línea blanca; por otra parte (Saco, y otros, 2002), en estudios realizados en cerdos

encontraron que esta proteína es un mejor indicador de estrés que el cortisol, no presentando variaciones circadianas. La haptoglobina aumenta significativamente a medida que aumenta el grado de cojera en vacas lecheras (Tejeda, 2006). Estos resultados alientan el uso de esta proteína como un adecuado indicador de la inflamación producida por las cojeras.

5.4. Bienestar Animal en vacas de leche.

5.4.1. Criterios medibles de bienestar de ganado vacuno de leche:

- La disminución en el consumo de alimento, problemas de locomoción, falta de descanso adecuado, jadeo o temblores, acicalamiento excesivo y comportamientos estereotipados, agonístico, depresión u otras conductas anómalas.
- Las tasas de morbilidad y mortalidad.
- Los sistemas de registro de condición corporal, cojeras y calidad de leche, pueden brindar información adicional.
- En animales en crecimiento, cambios significativos de peso. El rendimiento futuro de la producción de leche y la fertilidad de las novillas de reemplazo se afecta por sub o sobrealimentación.
- Presencia de ectoparásitos, cambios en el pelaje, suciedad excesiva con heces, barro o tierra.
- Una pobre relación hombre-animal, con distancia de fuga excesiva, resistencia a entrar en la sala de ordeño, patadas, vocalizaciones, magulladuras, laceraciones, ruptura de cuernos y cola. (World Organisation for Animal Health - OIE, 2019)

5.4.2. Recomendaciones de manejo de la OIE

- Entorno térmico. Si bien el ganado se puede adaptar a una amplia gama de entornos térmicos, las fluctuaciones diarias de temperatura, especialmente en

la Sabana de Bogotá, pueden causar estrés térmico por calor o frío. Los vaqueros deben asegurar el acceso a una fuente adicional de agua, sombra y ventilación. Teniendo en cuenta que los bovinos toleran mejor el frío. (Peñafort, 2008)

- Iluminación. De especial importancia para ganado estabulado.
- Calidad del aire. Una ventilación adecuada es importante para disipar eficazmente el calor de los animales y prevenir la acumulación de gases efluentes (principalmente, amoníaco y sulfuro de hidrógeno), incluyendo los que emanan del estiércol y el polvo.
- Ruido. La exposición a ruidos fuertes o repentinos, incluyendo los del personal, deberán minimizarse siempre que sea posible para prevenir reacciones de estrés y miedo. Los ventiladores, alarmas, mecanismos de suministro de alimentos u otros equipos interiores o exteriores deberán producir poco ruido.
- Suelos, camas y áreas de descanso. En todos los sistemas de producción, el ganado necesita un lugar bien drenado y cómodo para descansar. Todos los animales deben tener espacio suficiente para echarse y descansar al mismo tiempo. Se debe prestar atención a las zonas usadas para el parto. Las pendientes de los corrales deberán evitar humedad excesiva en los corrales.
- Rotación de praderas. Para lograr una buena higiene, minimizar el riesgo de enfermedades y lesiones y garantizar un suficiente aporte nutricional.
- Construcciones. Todas las instalaciones destinadas al ganado lechero deberán construirse de tal manera que se minimicen los riesgos para el bienestar animal. En los sistemas de pastoreo o combinados, los caminos y corredores de contención entre la zona de ordeño y las praderas deberán estar acondicionados y gestionados, a fin de reducir al mínimo las distancias para caminar. La construcción y el mantenimiento de los caminos, incluyendo su superficie, deberán minimizar cualquier riesgo para el bienestar del ganado, sobre todo para el estado de sus patas.
- En todos los sistemas de producción, los comederos deberán ser lo suficientemente amplios para que el ganado acceda sin obstáculos al alimento

y al agua. Los sistemas de alimentación deberán estar diseñados para minimizar la conducta agonística. Las salas de ordeño, los bretes de contención, las mangas y corrales deberán mantenerse limpios y no deberán presentar bordes cortantes ni salientes. Deberá haber un área separada para examinar de cerca los animales de manera individual y disponer de sistemas de contención. Los animales enfermos o lesionados deberán ser tratados separados de los sanos.

- Personal a cargo. Deberá ser competente con las habilidades y conocimientos de cómo llevar registros, comportamiento, manipulación, sanidad, bioseguridad, las necesidades fisiológicas y bienestar del ganado de leche.
- Alimentación. asegurarse de que el periodo de restricción alimentaria no se prolongue y de que se le provea alimentos y agua adicionales, si existe el riesgo de comprometer su bienestar. evaluación de la condición corporal adecuados para su ganado y no permitir que estos parámetros se salgan de un rango aceptable en función de la raza y el estado fisiológico de los animales
- Interacciones sociales. El ganadero deberá comprender la jerarquía que se desarrolla dentro de diferentes grupos y en los animales con alto riesgo, prestando atención a los comportamientos agonísticos y a las manifestaciones de hipersexualidad. Deben ser conscientes de los problemas de bienestar animal que pueden ser causados por el agrupamiento inadecuado de grupos de animales.
- Selección genética. A la hora de elegir una raza o subespecie para un sistema de producción, además de la productividad, será preciso tener en cuenta consideraciones de bienestar y sanidad. Deberán impulsarse la conservación y el desarrollo de líneas genéticas de ganado lechero, que limitan o reducen los problemas de bienestar animal.
- Sacrificio humanitario. Cuando se trabaja con ganado herido o enfermo, se deberá hacer un rápido diagnóstico para determinar si el animal debe recibir un tratamiento o ser sacrificado dando muerte de manera humanitaria y sin dilación, de conformidad con las recomendaciones de la OIE. (World Organisation for Animal Health - OIE, 2019)

5.5. Cortisol

La respuesta fisiológica del estrés agudo es el aumento de la secreción de glucocorticoesteroides de la corteza de la glándula adrenal, está regulada por el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA). Cualquier trauma, dolor, frío, puede estimular el hipotálamo, que libera la hormona corticotrofina (HCR), que a su vez produce la liberación de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) por parte de la adenohipófisis. La ACTH estimula la corteza adrenal y libera cortisol y cortisona en el torrente sanguíneo. La ACTH tiene un efecto en la corteza adrenal y además estimula la síntesis de los glucocorticoesteroides en la zona fascicular de la glándula adrenal (McDonald, 1989).

El cortisol incrementa la gluconeogénesis, inhibe la utilización de glucosa periférica y acumula glucógeno en el hígado. Causa degradación de la proteína muscular y produce la conversión de aminoácidos a glucosa, proceso conocido como gluconeogénesis (McDonald, 1989). El cortisol entra en la corriente sanguínea como molécula libre o está unido a proteínas del plasma. Sólo los corticosteroides libres son biológicamente activos (McDonald, 1989).

La vida media de cortisol es menor a 2 horas, la degradación metabólica tiene lugar en los hepatocitos y en pequeña proporción en los riñones. La célula hepática reduce el grupo 3 cetona a hidroxil, luego éste se conjuga a glucorónido o sulfato, soluble en agua. El 75 % es excretado por orina y el 25 % por las heces (McDonald, 1989). Acciones simples en los animales puede ocasionar aumento de la concentración de cortisol como la vaginoscopia, la inseminación artificial y otras interacciones como alojar las vacas en lugares desconocidos o no habituales, pasar al ordeño mecánico e incluso la aparición de celo (Wellnitz, Brucmaier, Baldi, & Stelwagen, 2001).

Trabajando con vacas lecheras estabuladas (Wagner & Oxenreider, 1972) midieron cortisol en plasma. Las muestras de sangre fueron obtenidas de vacas en lactancia con ternero al pie, de vacas en ordeño mecánico y de vacas secas. Los niveles en vacas secas tuvieron diferencias significativas respecto a las vacas amamantando. Los valores entre las 6 de la tarde y las 2 de la mañana 18:00-02:00 fueron significativamente bajos respecto a los otros dos periodos, lo que sugiere que la disminución de las actividades al atardecer y la noche, disminuye las actividades y las respuestas de cortisol en sangre son menores. Wagner y

Oxenreider encontraron un aumento significativo de cortisol en plasma 15 minutos después del ordeño, tanto en el ordeño mecánico, como con el ternero mamando. El nivel de cortisol en plasma fue de $8,3 \pm 0,40$ ng/ml durante el período de estimulación y de $5,4$ ng/ml antes y después de dicho período. La concentración de cortisol en leche está directamente relacionada con la concentración en plasma. Distintos reportes señalan una positiva y alta correlación de cortisol en plasma y leche (Fox, Butler, Everett, & Natze, 1981); (Termeulen, Butler, & Natze, 1981); (Shutt & Fell, 1985); (Dobson, Owen, & Foster, 1986).

Tratamiento de estrés en vacas lecheras. (Termeulen, Butler, & Natze, 1981) inyectaron de 40 UI ACTH (vía yugular) a un lote de vacas lecheras. En el momento de la inyección la concentración de cortisol en plasma y leche fue de $5,1 \pm 2,2$ y de $0,3 \pm 0,1$ ng/ml respectivamente. A los 60 minutos, la concentración de cortisol se incrementó en plasma y leche, fue de $30,9$ ng/ml y $2,6$ ng/ml respectivamente. Luego de 4 horas, el nivel de cortisol descendió a los valores basales

En otros estudios, (Dobson, Owen, & Foster, 1986), midieron en un grupo control que la concentración de cortisol en plasma fue de $2,00$ a $4,00$ ng/ml y luego de la inyección de ACTH, entre 15 a 30 minutos, el cortisol en plasma aumentó de 18 a 26 ng/ml y los valores máximos de cortisol en leche fue observado por Dobson entre los 105 a los 150 minutos. La concentración de cortisol en leche fue altamente correlacionada con los niveles en plasma durante el ordeño. Shutt & Fell estudiaron en bovinos el cortisol total y el libre en plasma y calostro-leche (Shutt & Fell, 1985). Una a dos horas luego de una inyección de ACTH, el cortisol total en plasma y en calostro fue de $16,6 \pm 1,6$ ng/ml y $4,4 \pm 1,3$ ng/ml respectivamente, mientras que el cortisol libre fue de $2,4 \pm 0,4$ y $1,8 \pm 0,5$ ng/ml respectivamente. Existe una alta correlación entre cortisol libre en plasma y en calostro o leche (Shutt & Fell, 1985). Solo cortisol libre es activo y puede difundir dentro de las células (McDonald, 1989)., Verkerk y otros, establecieron, que existe una relación entre la concentración de cortisol en la leche del despunte y la leche total con muestras de plasma tomadas antes del ordeño (Verkerk, Phpps, Carragher, Matthews, & Stelwagen, 1998) (McDonald, 1989); cuando el cortisol en plasma desciende a los valores basales, el cortisol colectado en la leche, regresa a la corriente sanguínea, aparentemente siguiendo un patrón de concentraciones. (Verkerk, Phpps, Carragher, Matthews, & Stelwagen, 1998), sugieren que

el cortisol puede retornar a la sangre más fácilmente desde los alvéolos que desde la cisterna del pezón. Esto probablemente sea por la diferente irrigación de ambas zonas, están más vascularizados los alvéolos que la cisterna. (Wilson, Fell, Colditz, & Collins, 2002), trataron de determinar el efecto del estrés ambiental en tres grupos de novillos durante 42 días. Uno de ellos, el grupo A estuvo en pastoreo y los otros B y C estabulados en sistema feed-lot. De los grupos en feed-lot el B tenía una densidad de 6 m² por cabeza, en un piso con barro y el otro grupo C tenía mayor espacio, 12 m² por cabeza y el piso era seco y limpio. Hubo una gran variación de cortisol en, pero no se encontró una diferencia significativa entre los grupos. Lo que hallaron fue una diferencia significativa entre el peso de la glándula adrenal del grupo A (pastoreo) respecto a los grupos B y C (feed-lot). Una formación nodular (hiperplasia) fue observada en los grupos B y en C

Este incremento del tamaño y del peso de las glándulas adrenales, en particular del área fascicular, podría indicar un efecto de estrés crónico. Aún no está claro si el estrés crónico aumenta la concentración de cortisol en plasma y luego en leche y si esto se puede verificar en la leche del tanque de frío. (Verkerk, Phpps, Carragher, Matthews, & Stelwagen, 1998), realizaron varios ensayos con grupos de vacas lecheras, un lote recibió una inyección de ACTH y otro fue transportado en un camión (transportado por 45 minutos). El tratamiento no afectó la composición de leche (datos no mostrados) pero se observó un aumento del recuento células somáticas (RCS) (P).

5.6. Proteína C reactiva

5.6.1. Estructura

La proteína C reactiva pertenece a la familia de las pentraxinas de unión a ligando dependientes de calcio que consta de 5 protómeros idénticos de 23 kDa simétricos alrededor de un poro central. Cada protómero consta de 206 aminoácidos. En la proteína ensamblada, todos los protómeros tienen la misma orientación. Por lo tanto, cada protómero tiene una cara de reconocimiento con un sitio de unión de fosfocolina (PCh) que consta de dos iones de Ca coordinados adyacentes a un bolsillo hidrófobo, y una cara efectora, donde el complemento C1q se une y se presume que los receptores se unen (Shrive, Agrawal, Greenhough, &

Volanakis, 2001) (Thompson, Pepys, & Wood, 1999). La principal función biológica de la RCP es el reconocimiento de partículas en patógenos y células dañadas del huésped, seguido de la mediación de su eliminación mediante la activación de la cascada del complemento y la fagocitosis. Como se mencionó anteriormente, el principal ligando de CRP es PCh, que se encuentra en varias especies bacterianas. Los fosfolípidos de membrana de los eucariotas también contienen PCh, pero sus grupos de cabeza solo son accesibles a la CRP en estado dañado o apoptótico (Volanakis & Kaplan, 1974); (Volanakis & Wirtz, 1979). Los otros ligandos bien reconocidos de CRP son fosfoetanolamina, cromatina, histonas, fibronectina, ribonucleoproteínas pequeñas, laminina y policationes (Black, Kushner, & Samols, 2004). La unión de la CRP a estos constituyentes nucleares es dependiente de Ca y se ha observado en núcleos de células necróticas en sitios de inflamación (Glitlin, Gitlin, & Gitlin, 1977). Además de interactuar con varios ligandos, la CRP puede activar la vía clásica del complemento, estimular la fagocitosis y unirse a los receptores de inmunoglobulina IgG (Fc γ R). La proteína C reactiva unida a un ligando multivalente es reconocida por C1q y puede iniciar eficazmente la formación de una convertasa C3 a través de la vía clásica del complemento (Volanakis J. E., 2001). Esta cascada da como resultado eficazmente el reclutamiento de la función opsonica del sistema del complemento, pero no sus efectos proinflamatorios y dañinos de la membrana, que requieren la escisión de C5 (Volanakis J. E., 2001). Se han demostrado las propiedades opsonicas de la RCP tanto para macrófagos como para neutrófilos (Volanakis J. E., 2001). De hecho, se demostró que la fagocitosis de partículas opsonizadas con CRP por monocitos y neutrófilos de ratón avanza a través del Fc γ RI (Mold, Greshman, & Du Clos, 2001). La potenciación de la fagocitosis por CRP también está mediada indirectamente por fragmentos del complemento opsonico unidos a ligandos de CRP como resultado de la activación del complemento iniciada por CRP (Edwards, Mold, Du Clos, Nakayama, & Gewurz, 1981).

5.6.2. Funciones

La proteína C reactiva es una proteína plasmática que participa en las respuestas sistémicas a la inflamación. Se une específicamente a las moléculas del huésped expuestas durante la apoptosis o que se encuentran en la superficie de patógenos. La síntesis de RCP aumenta a

las pocas horas de la infección o lesión tisular (Black, Kushner, & Samols, 2004) (Volanakis J. E., 2001). Su capacidad para reconocer patógenos y facilitar su eliminación mediante el reclutamiento de las proteínas del sistema del complemento y las células fagocíticas hace que la CRP sea parte de la primera línea de defensa innata. Además, la proteína parece desempeñar un papel clave en la eliminación de las células huésped apoptóticas y necróticas, contribuyendo así a la restauración de la estructura y función normales de los tejidos lesionados (Volanakis J. E., 2001).

5.6.3. Descubrimiento

Estudios de pacientes con infección por *Streptococcus pneumoniae* encontraron una proteína que podría precipitar el polisacárido C de la pared celular bacteriana durante la fase aguda de la enfermedad (Tillet & Francis, 1930). Posteriormente se identificó la fosfocolina como el ligando específico para la RCP en el polisacárido neumocócico C, parte del ácido teicoico de la pared celular neumocócica (Volanakis & Kaplan, 1971).

5.6.4. Síntesis

Sintetizada por los hepatocitos, predominantemente bajo el control transcripcional de IL-6, se han sugerido otros sitios de síntesis y posible secreción de RCP local. La síntesis hepática comienza rápidamente después de un único estímulo. La vida media plasmática de la RCP es de 19 horas y es constante en condiciones de salud y enfermedad. El único determinante de la concentración de RCP circulante es la tasa de síntesis (Vigushin, Pepys, & Hawkins, 1993), que refleja directamente la intensidad del proceso patológico que estimula su producción. Cuando cesa el estímulo para el aumento de la producción, las concentraciones de RCP circulante caen rápidamente, a la velocidad del aclaramiento de RCP plasmática. Las concentraciones de RCP en el suero de vacas lecheras sanas oscilan entre 10-30 $\mu\text{g} / \text{ml}$ (Lee, Dalton, Hoffman, & Passmore, 2003); (Morimatsu, 1989); (Morimatsu, Watanabe, Yoshimatsu, & Fujinaga, 1991).

5.6.5. Factores que afectan los niveles de RCP en vacas lecheras.

La RCP aumenta unos días después del parto por lesión tisular en el epitelio uterino. La RCP sérica también aumenta a medida que aumentaba la producción de leche durante el pico de lactancia. (Morimatsu, Watanabe, Yoshimatsu, & Fujinaga, 1991).

Condición corporal, edad y estado de gestación afectan las concentraciones de RCP. Se encontró una relación inversa en los niveles de RCP en suero y condición corporal (Lee, Dalton, Hoffman, & Passmore, 2003). Por otro lado, la edad de la vaca se correlacionó pobremente con los niveles séricos de RCP. Curiosamente, las concentraciones de RCP en el suero aumentaron durante los primeros 4 meses de gestación (34,5 $\mu\text{g} / \text{ml}$) y disminuyeron gradualmente hasta niveles nadir (4,9 $\mu\text{g} / \text{ml}$) durante la gestación tardía (Lee, Dalton, Hoffman, & Passmore, 2003).

Se ha demostrado que el estrés por manipulación o muestreo influye en la RCP sérica en vacas lecheras; sin embargo, el efecto desaparece en 48 h. Las enfermedades acompañadas de reacciones inflamatorias inducen un mayor estrés y, a su vez, elevan los niveles de RCP en las vacas lecheras. (Lee, Dalton, Hoffman, & Passmore, 2003).

En mastitis (Schrödl, Krüger, Hien, Földner, & Kunze, 1995), reportaron un aumento de hasta 10 veces en la concentración de RCP en la leche de vacas con mastitis (1.083 ng/mL) en comparación con vacas sanas normales (82ng/mL). Por otro lado, (Hamann, Kruger, Kretshmar, Nipp, & Gyodi, 1997) mostraron que la capacidad de la RCP de la leche para distinguir entre cuartos sanos y mastíticos era pobre, y la correlación entre la concentración de RCP en la leche y el SCC era baja ($r = 0.32$).

5.7. Proteínas Séricas

5.7.1. Proteínas totales

Son un constituyente de la sangre que representa la suma de albúmina y globulinas. La concentración de proteínas totales está influenciada por variaciones de las diferentes proteínas, por lo que puede suceder que disminuya una (albúmina), pero junto a ello aumente

al otra (globulinas), por lo que no hay variación en su valor total (Wittwer, 1983). Por lo tanto, para su análisis se debe tener los valores de sus dos fracciones.

Las hiperproteinemias se presentan generalmente acompañadas de un aumento de globulinas, que es su principal causa de variación (Rowlands, Little, & Kitchenham, 1977). Se han apreciado descensos en su concentración durante el período preparto, aumentando en el posparto (Rowlands, Manston, Pocock, & Dew, 1975). Su disminución más frecuente es por baja concentración de albúmina, en hemorragias y sobrehidratación (Rudolph, 1985).

La albúmina es la proteína sérica que se encuentra en mayor concentración, 50% de la proteína total. La albúmina es sintetizada en el hígado a partir de aminoácidos y es un buen indicador de la habilidad del animal para sintetizar y almacenar proteínas. Se debe tener en cuenta entonces que insuficiencias hepáticas y parásitos gastrointestinales también pueden producir descensos en su concentración (Sykes, 1978); (Topps & Thompson, 1984).

Cuando las concentraciones de albúmina intravascular disminuyen, se desplaza albúmina del intersticio, a través de los vasos linfáticos y la vena cava craneal hasta el compartimento intravascular. Así pues, el remante extravascular de albúmina actúa como reservorio para el reemplazo de albúmina intravascular durante los periodos de estrés, en los que la síntesis disminuye o se producen pérdidas agudas. Cuando la tasa de albúmina en sangre se restablece, los primeros depósitos reemplazados son los intersticiales. (Torrente, 2014)

La ingesta de proteínas afecta la concentración sanguínea de albúmina, pero es una respuesta más lenta que la observada para la urea (Rowlands, 1980); (Chamberlain & Wilkinson, 1996).

Las globulinas son un conjunto de proteínas que se agrupan en alfa, beta y gamma globulinas, según su velocidad de migración en un campo eléctrico (Tizard, 1983). Las alfa y beta son sintetizadas en el hígado, mientras que la gamma lo es por células plasmáticas y linfocitos. Estas últimas corresponden a las inmunoglobulinas (Ig G, M, A, D y E) (Wittwer, 1983).

Las hiperglobulinemias se presentan generalmente en el inicio de la lactancia y en las más productoras (Wittwer, Contreras, Böhmwald, & Filoza, 1987). Su aumento puede

observarse en procesos infecciosos agudos o crónicos, parasitismo, alteraciones hepáticas, carcinomas y mielomas (Wittwer, 1983).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Diseño

Se seleccionó un hato que coincidiera al momento de la realización del estudio, con el ciclo de vacunación contra la fiebre aftosa. Por otra parte, con el fin de comparar reacciones de los bovinos se hizo un muestreo sanguíneo dos (2) horas posteriores al momento de la vacunación y uno luego de setenta y dos (72) horas. Se seleccionaron los animales en forma aleatoria los bovinos que hicieron parte del estudio y se organizaron en cinco grupos a los cuales se les asignó un tratamiento. Una vez programadas las actividades a seguir, se listaron los materiales y personas que participarían en el muestreo.

Ubicación: 4°52'11.95"N - 74° 9'0.31"O, 2.578 msnm. Hacienda El Rabanal, vereda Chitasugá, Municipio de Tenjo, Cundinamarca, Colombia.

6.2. Población y muestra

Población total del hato, 78 bovinos de leche raza Holstein, de los cuales 42 se encontraban en producción, 6 animales en horro, 20 novillas de levante y 10 terneras destetas y en lactancia.

Muestra: 40 vacas lactantes distribuidas aleatoriamente en 5 grupos.

Grupo Experimental: está compuesto por vacas de raza Holstein seleccionadas aleatoriamente, a las que se les realizó un examen clínico para valorar su salud; posteriormente fueron divididas en 5 grupos marcados con marcador de cera, a los cuales se les aplicaron los tratamientos aleatoriamente, como sigue:

- Grupo 1 - (SSC) Solución Salina Subcutánea - (n=8). Tabla del cuello
- Grupo 2 - (VSC) Vacuna Subcutánea (n= 8). Tabla del cuello
- Grupo 3 - (VIM) Vacuna Intramuscular (n=8). Anca

- Grupo 4 - (SSIM) Solución Salina Intramuscular (n=8). Anca
- Grupo 5 - (GC) Control (no se aplicó ningún tratamiento) (n=8). Anca

Momentos: en el Momento 0 (M0), se tomaron muestras de sangre a los 8 animales de cada grupo, para tomar datos basales de cada uno de los grupos, posteriormente, a los cinco grupos se les hizo muestreo de sangre en el Momento 1 (M1) a las dos (2) horas de la aplicación de la vacuna. El Momento 2 (M2), se realizó a las setenta y dos (72) horas de la aplicación de la vacuna.

Pesaje de leche: para poder evaluar si la vacuna afectó la producción de leche se hicieron pesajes de leche con vasos medidores de leche que funcionan midiendo muestras proporcionales para el análisis preciso del rendimiento de la vaca. Estas mediciones se hicieron durante ocho (8) días, dos días previos a la vacunación, luego el día de la vacunación y primer muestreo y posteriormente durante los cinco (5) días siguientes a la vacunación.

Procesamiento de las muestras: las muestras fueron tomadas en momento 1(M1) y en momento 2 (M2), se centrifugaron para separar el suero, el cual se depositó en los viales marcados según grupo de tratamiento y momento. Estas muestras fueron almacenadas en un congelador a -17°C, para posteriormente ser enviadas vía aérea dentro de hielo seco al laboratorio de fisiología de la Universidad Nacional de Palmira.

6.3. Materiales

Vacuna contra la fiebre aftosa Aftogan® Vecol: Vacuna oleosa concentrada para prevenir la Fiebre Aftosa en bovinos. Suspensión bivalente del virus de la Fiebre Aftosa elaborada con los subtipos A24 Cruzeiro y O1 Campos cultivados en células BHK (Riñón de Hámster Lactante) en suspensión, inactivados con BEI y emulsionados en adyuvante oleoso. Indicada para la inmunización activa contra la Fiebre Aftosa en bovinos sanos.

Solución salina al 0.9% - Baxter: *Cloruro de Sodio, cada 100 ml. Contienen Cloruro de Sodio 900mg, Solución inyectable, Uso: Aporte hidroelectrolítico.

Guantes de Nitrilo: Los guantes de nitrilo son hechos de caucho sintético adecuado para muchas aplicaciones. El fuerte material de nitrilo hace que los guantes sean muy fáciles de deslizar. No contiene proteínas de látex.

Marcadores de Cera: usados para identificación temporal de animales de manera segura.

Viales para plasma Fisherbrand™: viales en polipropileno, con etiqueta White Marking Spot y de forma cónica.

BD Vacutainer de Tapón Rojo®: tubos de plástico para suero con activador de coagulación aplicado por aspersion en la pared y son utilizados para determinaciones en suero en química clínica y serología. Son recomendados por la FDA para inmunohematología: agrupación ABO, tipo RH, anticuerpos, fenotipos de glóbulos rojos y pruebas DAT

Agujas BD Vacutainer®: permiten mejor deslizamiento de la aguja en la vena sirven para tomas múltiples. Se usaron Agujas Verdes para toma múltiple, 21G x 38 mm.

Adaptadores Luer-Lok™: es un dispositivo estéril diseñado para recolectar muestras de manera más segura y de mejor calidad para acceso de catéteres intravenosos. Con el adaptador para jeringa, las muestras obtenidas con ésta se pueden transferir al tubo, manteniendo la relación aditivo/muestra y evitando la hemólisis.

Agujas BD™ Blunt Fill & Filter: agujas de alta tecnología con diseño de bisel de punta roma y cortado en ángulo de 45° con conexión Luer y Luer Lock. Medidas 18 x ½ y 18 x 1 ½.

Medidor de leche Waikato®: es un medidor plástico de leche con alta precisión ligado al establo donde está ubicado el equipo de ordeño, y entrega rendimientos exactos a través de muestras proporcionales. Certificado por el ICAR (International Committee Animal Register).

Reactivo de control de calidad PS2683 Randox®: de albúmina y proteínas, para el análisis de proteínas de muestras de sangre, el reactivo control de calidad específico de la proteína de Randox Acusera; cubre 27 proteínas de suero incluyendo las inmunoglobulinas, las proteínas de complemento y las proteínas inflamatorias. Diseñado para el uso en la

supervisión rutinaria de la exactitud y de la precisión, los valores de blanco y las gamas probados se proporcionan para los métodos basados inmunoturbidimétrico y nefelométricos. El formato listo para utilizar elimina la posibilidad de los errores de la reconstitución. AFP, albúmina, alfa-1-antitripsina, glicoproteína de Alpha-1-Acid, alfa-2-macroglobulina, ASO, antitrombina III, Beta-2-Microglobulin, ceruloplasmina, complemento C3, complemento C4, proteína C-reactiva, ferritina, haptoglobina, IgA, IgE, IgG, IgM, cadena ligera de Kappa, cadena de luz de Kappa (libre), cadena de luz de la lambda, cadena de luz de la lambda (libre), Prealbumin, factor reumatoide, proteína total, transferrina”.

Kit Novate DNOV001 Cortisol: Este kit está diseñado para la determinación cuantitativa de cortisol en suero o plasma mediante el método ELISA.

6.4. Datos y Análisis Estadísticos

Los datos recolectados tanto en el hato como en el laboratorio, fueron procesados en Excel y como prueba Post Hoc (La prueba de rango post hoc identifica subconjuntos homogéneos de medias que no se diferencian entre sí). Se realizó un análisis ANOVA de medidas repetidas bifactorial luego de comprobar la homocedasticidad de la varianza y normalidad de las variables, para comparar los grupos de tratamiento (SSC, VSC, SSIM, VIM, Control) y momentos (M1: dos horas posteriores a la vacunación y M2: setenta y dos horas posteriores a la vacunación). En todos los metabolitos determinados (Proteína, Albumina, Globulina, Cortisol, Proteína C Reactiva), cuando se encontraron diferencias, se corrieron las pruebas Tukey o Bonferroni. El software utilizado fue Sigma Star® para Windows 3.1., con una significancia estadística del 5%.

7. RESULTADOS

7.1. Proteína total.

Los niveles de proteína total subieron a las 72 horas en los grupos GC, SSC y VI, descendieron en el grupo SSIM y se mantuvieron constantes en VSC. Estos cambios en proteína total fueron responsabilidad de la globulina que mostro el mismo comportamiento, ya que la albúmina descendió en el segundo momento en todos los tratamientos. El aumento fue estadísticamente significativo para el valor reportado a las 72 horas en el tratamiento de vacuna intramuscular en el momento 2 (P=0,027).

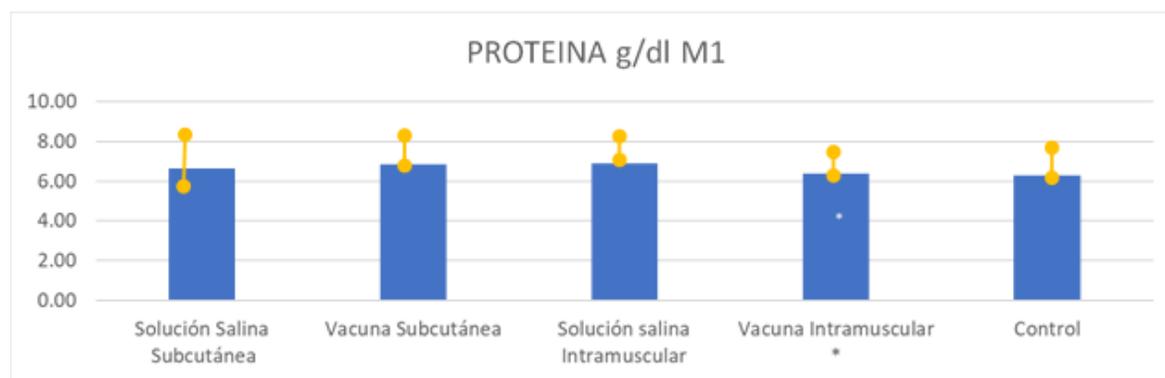
Tabla 1 Concentración promedio de parámetros bioquímicos indicadores de estrés en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa en diferentes sitios

		Tratamiento					SE	Valor P		
		Solución Salina Subcutánea	Vacuna Subcutánea	Vacuna Intramuscular	Solución Salina Intramuscular	Control		Tx	M	T×M
Proteína mg/dL	media	6,79	6,85	6,76	6,88	6,44	0,17	0,521	0,027	0,208
	M1	6,62	6,85	6,37	6,92	6,27				
	M2	6,95	6,85	7,15	6,84	6,70				
Albúmina mg/dL	media	3,51	3,26	3,94	3,33	3,43	0,10	0,437	0,436	0,99
	M1	3,55	3,29	3,41	3,36	3,46				
	M2	3,47	3,23	3,39	3,31	3,39				
Globulina mg/dL	media	3,28	3,59	3,37	3,55	3,06	0,22	0,433	0,017	0,317
	M1	3,07	3,56	2,97	3,57	2,81				
	M2	3,48	3,62	3,77	3,53	3,31				
Cortisol ng/ml	media	9,20	6,63	8,03	3,29	3,84	1,53	0,039	0,175	0,854
	M1	10,20	8,80	9,62	3,54	3,77				
	M2	8,18	4,46	6,43	3,03	3,91				
RCP mg/dl	Media	0,46	0,49	0,52	0,41	0,33	0,053	0,133	-0,001	0,002
	M1	0,45	0,37	0,46	0,42	0,31				
	M2	0,48	0,60	0,59	0,41	0,35				

SSC n= 8, VSC n=8, SSIM n=8, VIM n=8, Control n=8

Tabla 2 Concentración de Proteína en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1

Tratamiento	PROTEINA g/dl M1	DESV. ESTÁNDAR	MÁXIMO	MÍNIMO
Solución Salina Subcutánea	6.63	0.78	7.40	5.85
Vacuna Subcutánea	6.85	0.40	7.25	6.45
Solución salina Intramuscular	6.93	0.32	7.25	6.60
Vacuna Intramuscular *	6.38	0.37	6.74	6.01
Control	6.28	0.43	6.70	5.85

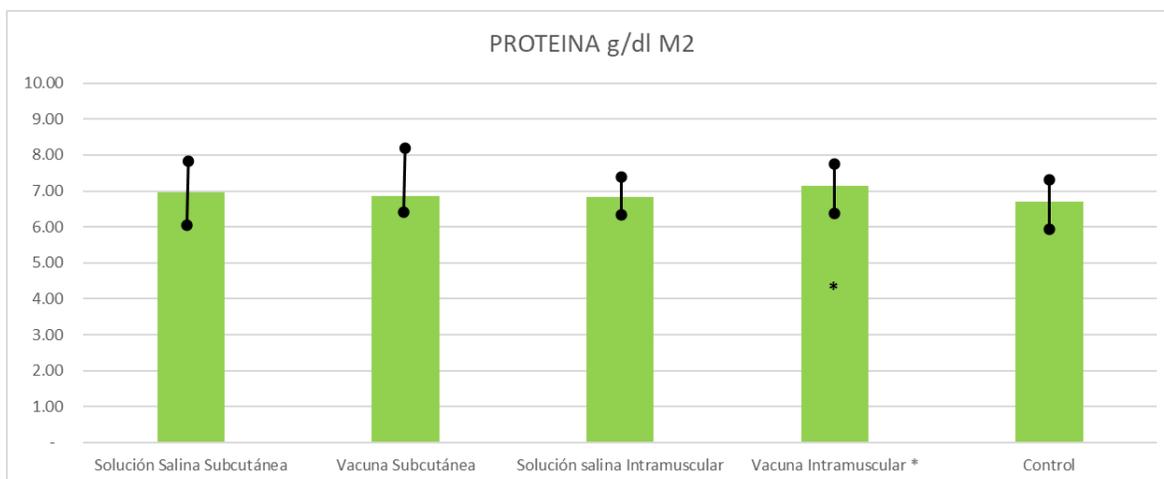


Gráfica 1 Proteína total en plasma M1

Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = 0,027$ en Test de Tukey o Bonferroni).

Tabla 3 Concentración de Proteína en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2

Tratamiento	PROTEINA g/dl M2	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	6.95	0.96	7.91	5.99
Vacuna Subcutánea	6.85	0.67	7.52	6.18
Solución salina Intramuscular	6.84	0.32	7.16	6.52
Vacuna Intramuscular *	7.15	0.82	7.97	6.33
Control	6.70	0.78	7.48	5.92



Gráfica 2 Proteína total en plasma M2

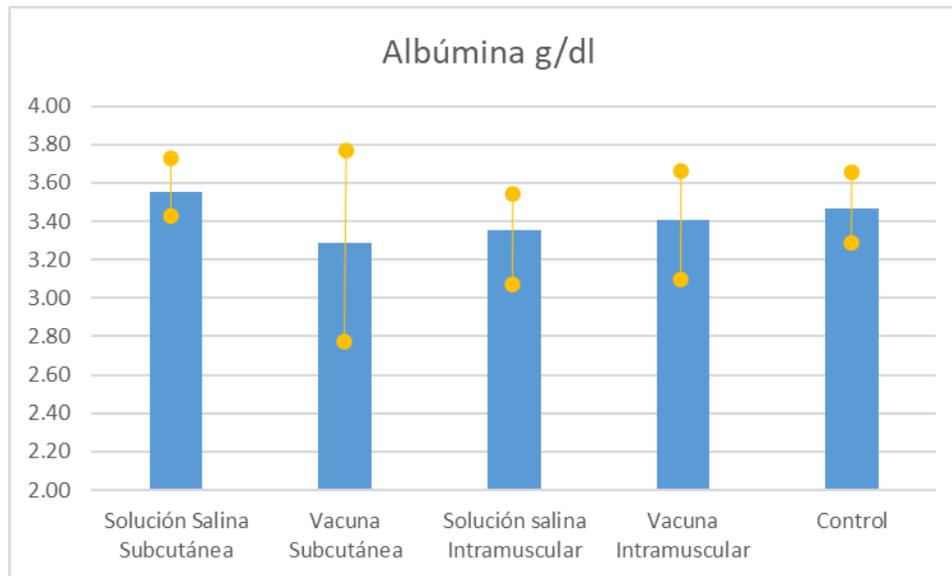
Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = 0,027$ en Test de Tukey o Bonferroni).

7.2. Albúmina

Se observa una disminución a las 72 horas, para todos los tratamientos en la concentración sérica de albúmina. Sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) para ningún tratamiento ni momento. Tampoco hubo diferencia entre tratamientos.

Tabla 4 Concentración de Albúmina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1

Tratamiento	Albúmina g/dl M1	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	3.55	0.14	3.69	3.41
Vacuna Subcutánea	3.29	0.49	3.78	2.80
Solución salina Intramuscular	3.36	0.23	3.58	3.13
Vacuna Intramuscular *	3.41	0.26	3.67	3.15
Control	3.46	0.17	3.63	3.30

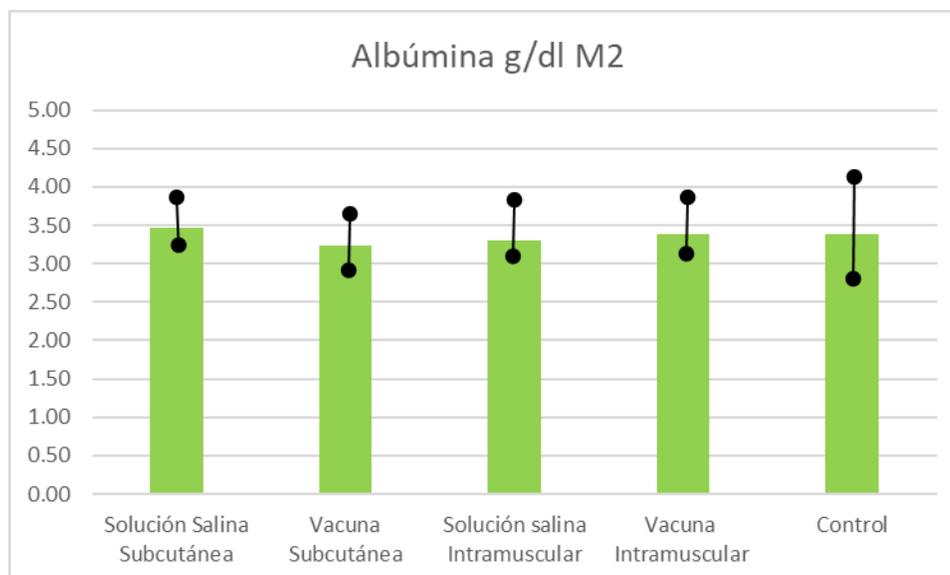


Gráfica 3 Albúmina en plasma M1

No se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 5 Concentración de Albúmina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2

Tratamiento	Albúmina g/dl M2	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	3.47	0.24	3.71	3.23
Vacuna Subcutánea	3.23	0.30	3.53	2.93
Solución salina Intramuscular	3.31	0.40	3.71	2.90
Vacuna Intramuscular *	3.38	0.34	3.72	3.04
Control	3.39	0.70	4.08	2.69



Gráfica 4 Albúmina en plasma M2.

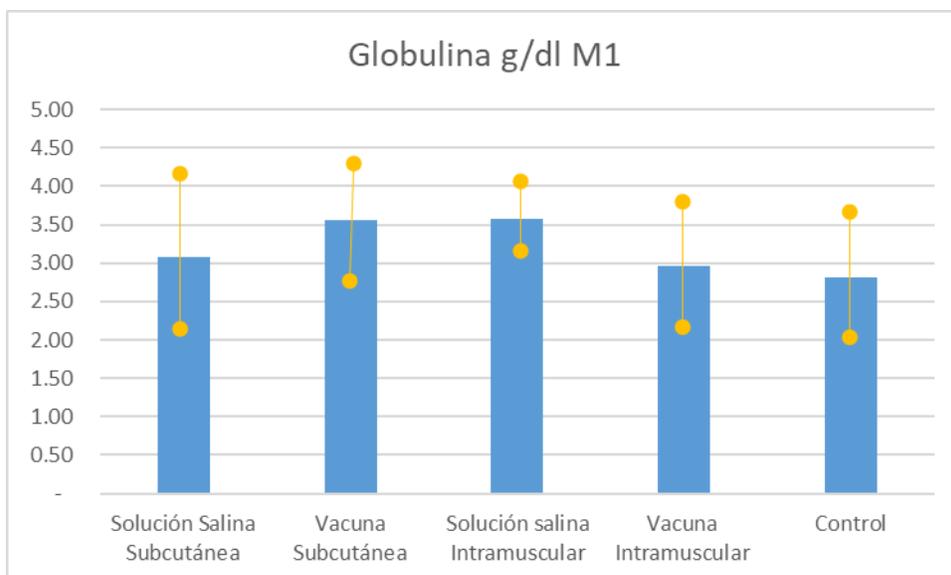
No se observaron diferencias estadísticamente significativas.

7.3. Globulina

La globulina sérica en general tuvo valores más altos a las 72 horas del tratamiento en todos los grupos con pequeñísima excepción para el grupo de Solución salina intramuscular. Fue además la responsable de los valores más altos de proteína total en el momento 2, ya que la albumina descendió en todos los grupos. Hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre momentos para el grupo de solución salina subcutánea

Tabla 6 Concentración de Globulina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1

Tratamiento	Globulina g/dl M1	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	3.07	1.02	4.10	2.05
Vacuna Subcutánea	3.56	0.83	4.39	2.73
Solución salina Intramuscular	3.57	0.43	4.00	3.14
Vacuna Intramuscular *	2.97	0.84	3.81	2.12
Control	2.81	0.82	3.63	1.99

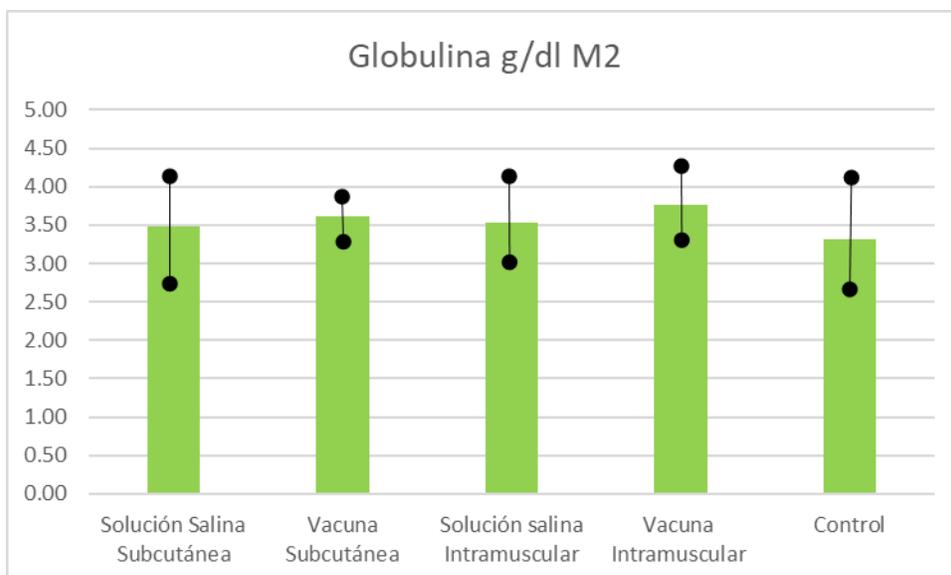


Gráfica 5 Concentración de la globulina sérica (g/dL) M1

Nivel de (*) $P < 0.05$ ($P = 0,017$ en Test de Tukey o Bonferroni). M1

Tabla 7 Concentración de Globulina en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2

Tratamiento	Globulina g/dl M2	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	3.48	0.81	4.29	2.67
Vacuna Subcutánea	3.62	0.30	3.92	3.32
Solución salina Intramuscular	3.53	0.58	4.11	2.95
Vacuna Intramuscular	3.77	0.59	4.36	3.18
Control	3.31	0.77	4.08	2.55



Gráfica 6 Concentración de la globulina sérica (g/dL) M2.

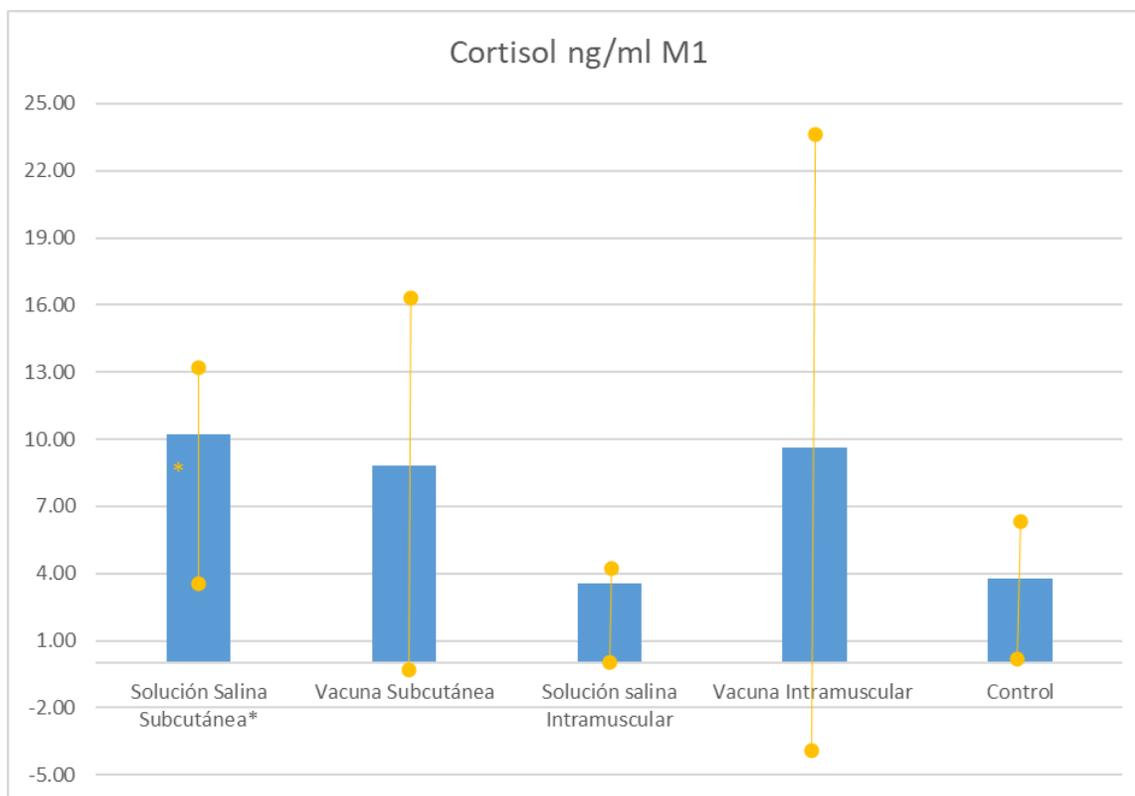
Nivel de (*) $P < 0.05$ ($P = 0,017$ en Test de Tukey o Bonferroni).

7.4. Cortisol

Las concentraciones séricas de cortisol, medidas 2 horas después de la aplicación de los tratamientos. Se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) para el tratamiento con solución salina subcutánea. A las 72 horas del manejo inicial los valores descendieron con excepción del grupo control que mantuvo prácticamente la misma concentración.

Tabla 8 Concentración de Cortisol en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1

Tratamiento	Cortisol ng/ml M1	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea*	10.21	4.47	14.68	5.74
Vacuna Subcutánea	8.80	7.64	16.44	1.17
Solución salina Intramuscular	3.55	2.21	5.76	1.34
Vacuna Intramuscular	9.62	14.38	24.01	- 4.76
Control	3.77	2.80	6.57	0.98

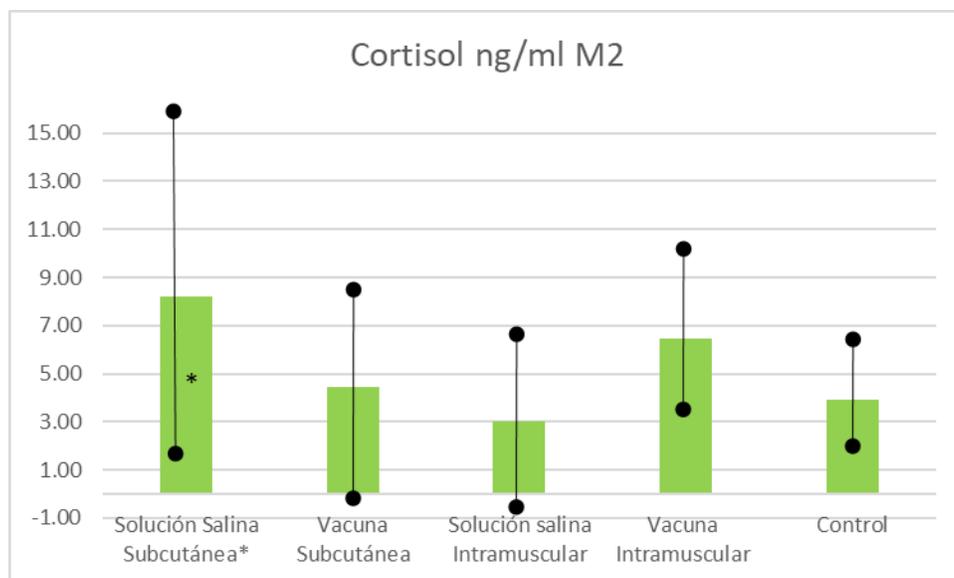


Gráfica 7 Concentración de la Cortisol (ng/ml) M1.

Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = 0,039$ en Test de Tukey o Bonferroni).

Tabla 9 Concentración de Cortisol en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2

Tratamiento	Cortisol ng/ml M2	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea*	8.19	7.09	15.28	1.09
Vacuna Subcutánea	4.46	4.10	8.56	0.36
Solución salina Intramuscular	3.04	3.09	6.13	- 0.05
Vacuna Intramuscular	6.44	3.42	9.86	3.01
Control	3.91	2.45	6.36	1.46



Gráfica 8 Concentración de la Cortisol (ng/ml) M2.

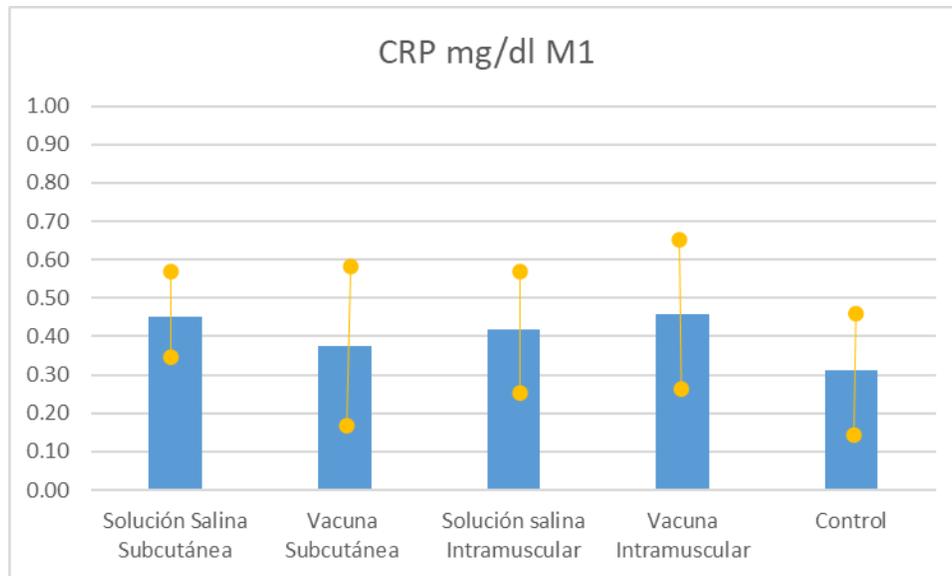
Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = 0,039$ en Test de Tukey o Bonferroni).

7.5. Proteína C Reactiva

Niveles superiores en todos los tratamientos respecto al control y en ambos momentos, como era de esperarse e inferiores en las vacas tratadas con solución salina por menor reacción tisular. En otra investigación similar, trabajando con aftosa en cerdos se encontraron niveles de proteína c reactiva elevados en cerdos inmunizados respecto a los que no se trataron (Kyung-Woo, Kwang-Nyeong, Hyun S, & Jong-Hyeon, 2019).

Tabla 10 Concentración de Proteína C Reactiva en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M1

Tratamiento	CRP mg/dl M1	DESV. ESTÁNDAR	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	0.45	0.10	0.55	0.35
Vacuna Subcutánea	0.37	0.21	0.58	0.17
Solución salina Intramuscular	0.42	0.16	0.57	0.26
Vacuna Intramuscular	0.46	0.20	0.66	0.25
Control	0.31	0.15	0.46	0.16

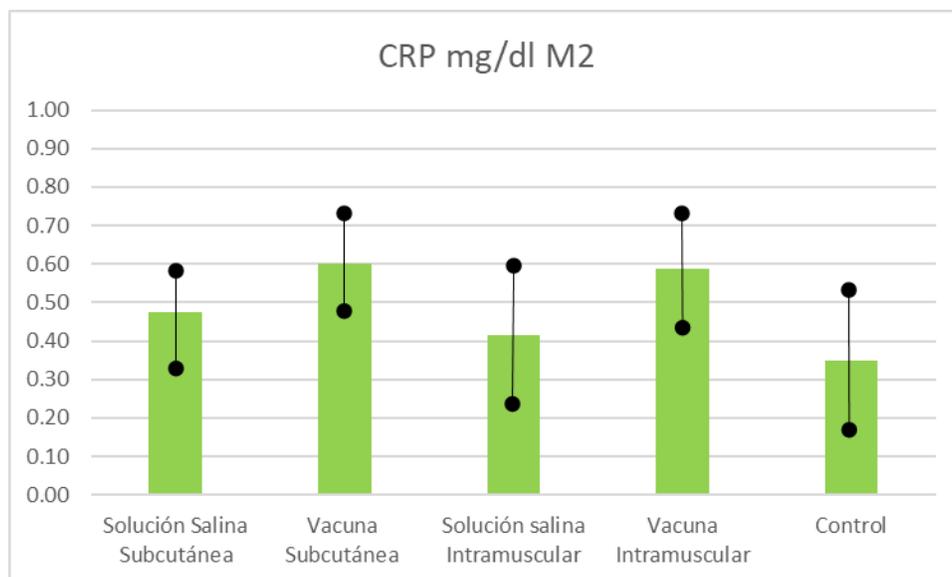


Gráfica 9 Proteína C reactiva.

Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = -0,001$ en Test de Tukey o Bonferroni). M1

Tabla 11 Concentración de Proteína C Reactiva en vacas Holstein lactantes sometidas a vacunación de aftosa por diferentes vías de aplicación M2

Tratamiento	CRP mg/dl M2	MAXIMO	MINIMO
Solución Salina Subcutánea	0.48	0.61	0.34
Vacuna Subcutánea	0.60	0.72	0.48
Solución salina Intramuscular	0.42	0.60	0.23
Vacuna Intramuscular	0.59	0.75	0.42
Control	0.35	0.53	0.17



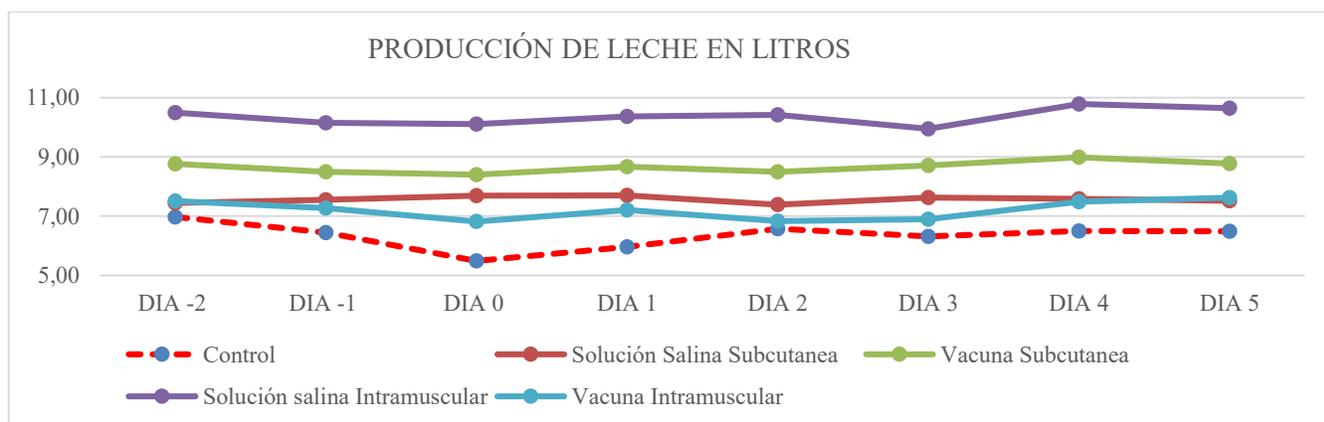
Gráfica 10 Proteína C reactiva.

Nivel de (*) $P < 0.05$. ($P = -0,001$ en Test de Tukey o Bonferroni). M2

7.6. Producción de leche

El número de litros producido no tuvo diferencias significativas en los días de muestreo pre y post vacunales.

Gráfica 11 Producción de leche en litros



P Valor: $T=0,048$. Momento $<0,001$. $T \times M = 0,046$

Tabla 12 ANOVA Producción de leche en litros entre el día -2 y el día 5

Momento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día -2	36	603.4	16.76	30.94
Día -1	36	597.9	16.61	30.02
Día 0	36	587.1	16.31	29.64
Día 1	36	589.4	16.37	30.28
Día 2	37	577.7	15.61	36.1
Día 3	37	580.5	15.69	33
Día 4	37	602.8	16.29	31.33
Día 5	37	600	16.22	32.11

ANÁLISIS
DE
VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	41.29	7	5.9	0.19	0.99	2.04
Dentro de los grupos	9001.47	284	31.7			

8. DISCUSIÓN

En el presente estudio nos planteamos como objetivo analizar el efecto de la vacunación antiaftosa por diferentes vías, sobre algunos parámetros bioquímicos y productivos, indicadores de estrés en vacas lecheras de la sabana de Bogotá. Como parámetros bioquímicos fueron evaluados: Proteínas plasmáticas totales, albúmina, globulina, cortisol, proteína C reactiva y como parámetro productivo se midió la producción de leche diaria. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de tratamiento con inyección de vacuna intramuscular y subcutánea, solución salina fisiológica intramuscular y subcutánea y un grupo control sin ningún tratamiento y solo sometido al procedimiento de manejo.

Como resultado del estudio se observó que los niveles de proteína total subieron a las 72 horas en los grupos GC, SSC y VIM, descendieron en el grupo SSIM y se mantuvieron constantes en VSC. Estos cambios en proteína total fueron responsabilidad de la globulina que mostro el mismo comportamiento, ya que la albúmina descendió en el segundo momento en todos los tratamientos. El aumento en las proteínas totales y en especial en la fracción globulina, puede estar indicando un incremento en la respuesta inmune que fue mayor en el grupo vacunado por vía intramuscular. (Aunque la estadística solo mostró una diferencia en el momento y no entre los tratamientos, pero los gráficos muestras diferencia aparente entre el grupo IM y control) (Gráficos 1, 2 y 3)

En cuanto a la concentración sérica de albúmina, se observa una disminución a las 72 horas, para todos los tratamientos. Sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) para ningún tratamiento ni momento. Tampoco hubo diferencia entre tratamientos. Este descenso del valor de albúmina pudo deberse a diferencias del estatus de hidratación al momento de la muestra como señala (Rowlands, Little, & Kitchenham, 1977) citado por (Molina Hernández, 2000), o por intoxicación hídrica (Aítra, Berisso, & Quiroga, 2017).

En humanos, en pacientes pediátricos, encontraron que la albúmina disminuía en forma significativa durante el período de mayor estrés. (Gazzaneo, y otros, 2005). Como posible respuesta al proceso inflamatorio del tratamiento (González Naranjo & Molina

Restrepo, 2010), la elevación de la globulina sérica en general tuvo valores más altos a las 72 horas del tratamiento en todos los grupos con excepción para el grupo de Solución salina intramuscular. Fue además la responsable de los valores más altos de proteína total en el momento 2, ya que la albumina descendió en todos los grupos. Hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre momentos para el grupo de solución salina subcutánea. Coincide con los resultados entregados por (Kirbas, y otros, 2018) donde con modelos de reticuloperitonitis traumática encontraron la globulina como un marcador confiable de inflamación aguda.

También está en concordancia con un trabajo en animales vacunados con virus inactivado donde la respuesta inmune se caracteriza por un aumento muy rápido de IgM, IgG1 e IgG2. Generalmente, los niveles de anticuerpos neutralizantes y la afinidad promedio de la respuesta inducida por la vacunación son menores que los inducidos por una infección natural (Collen, 1994). (Albright & Arave, 1997) (Tami, 1999).

Las concentraciones séricas de cortisol, medidas 2 horas después de la aplicación de los tratamientos, se elevaron significativamente en todos los grupos con excepción del grupo inyectado con solución salina intramuscular, comparado con el grupo control que representa los niveles basales de cortisol (Gráfico 4). Es importante explicar que el grupo de vacuna intramuscular si presentó un aumento de cortisol a diferencia del inyectado con solución salina. Lo que quiere decir que el procedimiento de inyección intramuscular no generó estrés, pero la inyección del producto que es oleoso si causó estrés y posiblemente dolor.

En un estudio similar para dosis de la vacuna antirrábica sobre la concentración sérica de cortisol y la respuesta inmune humoral en bovinos, así como la correlación entre las concentraciones séricas de cortisol y los títulos de rabia. neutralizar los anticuerpos. El ganado Nelore se asignó aleatoriamente a uno de tres grupos, que fueron vacunados con una dosis de la vacuna contra la rabia (Reis, Pardo, Frazatti-Gallina, Paoli, & Oba, 2013).

Las concentraciones parecen tener relación con la invasión, por parte del operador, de la zona de fuga del bovino, como se ha observado en animales con un temperamento alto de fuga (Grandin, 1997) y la molestia propia de la inyección de la vacuna. A las 72 horas permanecen aún elevados respecto al control, con excepción del control, posiblemente por memoria al tratamiento al ser llevadas de nuevo al corral (Grandin, 2002). Otros trabajos con vacuna antiaftosa mostraron similares resultados (Chun-Nam, y otros, 2018).

En relación a la proteína C reactiva, se observaron niveles significativamente superiores en todos los tratamientos respecto al control y en ambos momentos, como era de esperarse, siendo inferiores en las vacas tratadas con solución salina (Gráfico 5). Estas diferencias se explican por qué la inyección de solución salina produjo una menor reacción tisular comparado con las inyecciones de vacuna intramuscular y subcutánea. En otra investigación similar, trabajando con aftosa en cerdos se encontraron niveles de proteína c reactiva elevados en cerdos inmunizados respecto a los que no se trataron (Kyung-Woo, Kwang-Nyeong, Lillehoj, & Jong-Hyeon, 2019).

Por otra parte, en un trabajo en humanos con estudiantes universitarios en época de evaluación se concluyó, que el estrés tiene la capacidad de activar procesos inflamatorios y aumentar los niveles de RCP en sangre. (Castrillón, Moreno, Morante-Caicedo, & González- Apraez, 2017)

Otro punto a considerar es la elevación de la CRP, como respuesta a la toma de muestras de sangre. Investigadores encontraron una elevación a las 12 horas de tomada de la muestra que retornaron a su nivel normal a las 36 horas. La misma investigación concluyó que otros factores también incrementan la CRP, tales como alta producción y problemas sanitarios. (Lee, y otros, 2003)

Investigadores de Tami Nadu - India, concuerdan en que cuando el bovino detecta un estrés por encima de su punto crítico rápidamente sintetiza CRP en el hígado y la libera a la circulación como respuesta protectora contra el agente estresante. (Lee, y otros, 2003)

El número de litros producido no tuvo alteraciones significativas en los días post vacunales. Incluso mostraron un ligero aumento posiblemente por un mayor consumo de alimento en respuesta a un estrés ligero. (Torres-González, y otros, 2009). Los resultados se oponen a lo encontrado por otros investigadores después de la vacunación en bovinos de leche, donde hay una disminución considerable en la producción. (Bergeron & Elsener, 2019).

En contraste, un grupo de bovinos de carne sometidos a un estrés que simulaba áreas de mercadeo, se comparó la ingesta de materia seca, en animales vacunados en condiciones

de estrés y en ambientes tranquilos. Los animales estresados redujeron su consumo. (Hudson, y otros, 2020)

En otro trabajo la producción de leche fue menor, aunque la leche residual mayor, cuando las vacas fueron cambiadas de sala de ordeño, pero esto no cambió por el contacto humano. Las vacas ordeñadas solas en una habitación desconocida mostraron signos de estrés agudo y dieron menos leche debido a una mayor cantidad de leche residual y una menor secreción de oxitocina. El contacto humano redujo algunos signos conductuales de agitación y frecuencia cardíaca, pero no tuvo ningún efecto sobre la producción de leche o las respuestas hormonales.

Sin embargo, otras investigaciones indican que las personas pueden ser un factor estresante para el ganado (Hemsworth, Coleman, Barnett , & Dowling, 2002); (Seabrook, 1994) informa que el ganado manejado con brusquedad tenía menor producción de leche y era más difícil ordeñar, mientras que (Rushen, Passillé, & Munksgaard, 1999) encontraron que vacas con miedo de una persona específica presente durante el ordeño, tenían mayor cantidad de leche residual y menor producción de leche, así como mayor frecuencia cardíaca y movimiento durante el ordeño.

9. CONCLUSIONES

La vacunación antiaftosa es segura para la región y el tipo de animales experimentales. Sin embargo, el proceso de vacunación genera estrés en los animales no tanto por el manejo propio de los animales si este se realiza adecuadamente, pero si por la aplicación misma de una inyección de un producto oleoso como lo es la vacuna antiaftosa.

La vacunación en la tabla del cuello genera un distrés superior a la vacunación intramuscular en los cuartos posteriores.

Aunque no se evidencio la presencia de cojeras posterior a la aplicación intramuscular, la proteína C reactiva si es indicativo junto con las globulinas de un proceso inflamatorio que produce dolor y estrés en los animales.

La inyección de la vacuna por vía intramuscular también generó un mayor nivel de globulinas por lo que podría estar produciendo una mejor respuesta inmune que la vía subcutánea.

La producción de leche no se vió afectada por la aplicación de la vacuna ya que no se observó disminución e incluso presento un ligero aumento.

El seguimiento a las recomendaciones de manejo sugeridas por los trabajos de etología y bienestar animal tienen un gran peso en reducir el estrés que esta práctica produce. Los animales presentaron memoria al manejo y respondieron en consecuencia.

La vía intramuscular puede estar dando una mejor respuesta inmune y al mismo tiempo generando menor nivel de estrés por lo que es la más recomendada.

10. RECOMENDACIONES

Las campañas de vacunación deben ser supervisadas por personal experto en bienestar animal para reducir los riesgos de reacciones adversas, incluida la disminución de la producción de leche.

Se recomienda la vacunación intramuscular en cuartos traseros por estar fuera de la zona de escape de los bovinos.

Se debe replicar la investigación en hatos de mayor producción de leche para cuantificar mejor una posible variación en la cantidad de leche producida.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aítra, S., Berisso, R., & Quiroga, M. A. (2017). *Intoxicación hídrica en Bovinos*. Facultad de Ciencias Veterinarias -UNCPBA-.
- Albright, J. C., & Arave, C. (1997). *Behavioural responses to management systems*. Oxon, UK.
- Arraño, C., Baez, A., Flor, E., Whay, H. R., & Tadich, N. E. (2007). Estudio preliminar del uso de un protocolo para evaluar el bienestar de las vacas lecheras usando observaciones en el animal. *MedVet*, 39, 239-245.
- Axelrod, J., & Reisine, T. (1984). Stress hormones: their interaction and regulation. *PubMed Science*, 224, 452-459.
- Bergeron, R., & Elsener, J. (2019, Marzo). Comparison of Postvaccinal Milk Drop in Dairy Cattle Vaccinated with One of Two Different Commercial Vaccines. *VetFolio*.
- Black, S., Kushner, I., & Samols, D. (2004). C-reactive Protein. *National Library of Medicine*, 279.
- Bohus, B. (1987). *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Kluwer Academic Publishers.
- Broom, D. M. (1991). Concepts and measurement. *Journal of Animal Science*(69), 4167-4175.
- Caballero, & Sumano. (1993). *Archivos de Medicina Veterinaria*, 25, 15-30.
- Castrillón, E., Moreno, S., Morante-Caicedo, C., & González-Apraez, J. (2017). Estrés académico, ansiedad y niveles de proteína C reactiva: Revisión de la literatura. *Salutem Sicentia Spiritus*, 3(2).
- Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. (2017). *II TALLER INTERNACIONAL DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE FIEBRE AFTOSA*. Asunción: Panaftosa.
- Chamberlain, A., & Wilkinson, J. (1996). *Feeding the dairy cow*. Chalcombe Publication.
- Chun-Nam, C., Won-Seok, C., Eun-Kee, P., Chang-Yeul, Y., Song-Ee, S., Suk, K., & Hu-Jang, L. (2018). Effects of reduced glutathione on stress and inflammatory response in Korean native calves vaccinated with foot-and-mouth disease vaccine. *Preventive Veterinary Medicine Journal*, 42(1), 37-40.
- Collen, T. (1994). Foot-and-mouth disease (aphthovirus): viral T cell epitopes. *B. M. L. Goddevis and Morrison*, 173-197.
- Contexto Ganadero. (2016). La fiebre catarral maligna, una exótica enfermedad bovina. *Contexto Ganadero*.

- Crookshank, H., Elissalde, M., White, R., Clanton, D., & Smalley, H. (1979). Effect of transportation and handling of calves upon blood serum composition. *Journal of Animal Science*, 48, 430-435.
- Dirección Técnica de Vigilancia Epidemiológica . (2016). *Boletín Sanidad Animal*. Instituto Colombiano Agropecuario ICA.
- Dobson, H., Owen, J., & Foster, R. (1986). *Dpt. Vet. Clinical Scie "14th World Congress Disease of Cattle Dublin*. University of Liverpool.
- Edwards, K., Mold, C., Du Clos, T., Nakayama, S., & Gewurz, H. (1981). C-reactive protein reactivity with complement and effects on phagocytosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*(389), 251-262.
- Escandón Escandón, A. M. (2011). *Lengua azul en bovinos*. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Fox, L., Butler, W. R., Everett, R. W., & Natze, R. P. (1981). "Effect of Adrenocorticotropin on milk and plasma cortisol concentrations". *Journal Dairy Science*, 64, 1794-1803.
- Fraser, A., & Broom, D. (1997). Welfare terminology and concepts. In *Farm animal behaviour and welfare* (III ed., pp. 256-357). Oxon, UK: CABI Publishing.
- Fulton, R., Hessman, B., Johnson , B., Ridpath, J., Saliki, J., Burge , L., . . . Payton , M. (2006). Evaluation of diagnostic tests used for detection of bovine viral diarrhoea virus and prevalence of subtypes 1a, 1b and 2a in persistently infected cattle entering a feedlot. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(4), 578-584.
- Gazzaneo, M., Tineo, E., Chapín, Y., Vizcaíno, R., Gerardino, O., & Rodríguez, Y. (2005). ALBÚMINA SÉRICA COMO INDICADOR NEGATIVO DE ESTRÉS METABÓLICO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SEPSIS. ESTADO ANZOÁTEGUI. *Sistema de Información Científica Redalyc*.
- Gitlin, J. D., Gitlin, J. I., & Gitlin, D. (1977). Localization of C-reactive protein in synovium of patients with rheumatoid arthritis. *Arthrit Rehum*, 20, 1491-1499.
- González Naranjo, L. A., & Molina Restrepo, J. F. (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. *Revista Colombiana de Reumatología*, 17(1).
- Grandin, T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, 249-257.
- Grandin, T. (2002). *Livestock handling and transport*. Wallingford, UK: CABI.
- Gregory, N. (2004). Physiology and behaviour of animal suffering. *UFAW Animal Welfare Series Blackwell Publishing*.

- Hamann, J., Kruger, M., Kretshmar, M., Nipp, B., & Gyodi, P. (1997). C-reactive Protein in Milk of Healthy and Subclinically Diseased Bovine Udder Quarters. *Milchwissenschaft*, 52, 546-550.
- Hemsworth, P., Coleman, G., Barnett, J., & Dowling, S. (2002). The effects of cognitive behavioral intervention on the attitude and behaviour of stockpersons and the behaviour and productivity of commercial dairy cows. *Journal of Animal Science*(80), 68-78.
- Horadoga, N., Knox, K., Gibas, H., Reid, S., Horadagoda, A., Edwards, S., & Eckersall, P. (1999). Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Veterinary Record*, 144, 437-441.
- Hudson, R. E., Tomczak, D. J., Kaufman, L., Adams, A. M., Carroll, J. A., Broadway, P. R., . . . Richeson, J. (2020). Immune Responses and Performance Are Influenced by Respiratory Vaccine Antigen Type and Stress in Beef Calves. *Livestock Issues Research Unit*, 10(7).
- Humblet, M., Judong, M., & Godeau, J. (2002). Relationship between Haptoglobin, an acute phase protein and absolute number of leukocytes, neutrophils and monocytes in lactating cows in field conditions. Proceedings of the 10th Congress of the International. *Proceedings of the 10th Congress of the International Society of Animal Clinical Biochemistry*. Gainesville, FL USA.
- Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2019). ICA. Retrieved from ICA: [https://www.ica.gov.co/getdoc/471e32cc-537f-44c2-935c-317cf8f9fa2e/fiebre-aftosa-\(1\).aspx#:~:text=La%20fiebre%20aftosa%20ingres%C3%B3%20a,en%20Sudam%C3%A9rica%2D%20han%20estado%20presentes](https://www.ica.gov.co/getdoc/471e32cc-537f-44c2-935c-317cf8f9fa2e/fiebre-aftosa-(1).aspx#:~:text=La%20fiebre%20aftosa%20ingres%C3%B3%20a,en%20Sudam%C3%A9rica%2D%20han%20estado%20presentes)
- Iowa State University. (2007). Fiebre Aftosa. *College of Veterinary Medicine Iowa State University*.
- Kirbas, A., Ozkanlar, Y., Aktas, M. S., Ozkanlar, S., Ulas, N., & Erol, H. S. (2018, Junio). Acute Phase Biomarkers for Inflammatory Response in Dairy Cows with Traumatic Reticuloperitonitis. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 70(2), 23-29.
- Kyung-Woo, L., Kwang-Nyeong, L., Hyun S, L., & Jong-Hyeon, P. (2019). Serum concentration of acute phase proteins and cytokines in vaccinated pigs challenged with foot-and-mouth disease virus serotype O. *Revista Brasileira de Zootecnia*. doi:<https://doi.org/10.1590/rbz4820180190>
- Kyung-Woo, L., Kwang-Nyeong, L., Lillehoj, H., & Jong-Hyeon, P. (2019). Serum concentration of acute phase proteins and cytokines in vaccinated pigs challenged with foot-and-mouth disease virus serotype O. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48.

- Lee, A. M., Dalton, R. R., Hoffman, W. H., & Passmore, G. G. (2003). Plasma C-Reactive Protein Levels in Severe Diabetic Ketoacidosis. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 33(4), 435-442.
- Lee, W.-C., Hsiao, H.-C., Wi, Y.-L., Lin, J.-H., Lee, Y.-P., Fung, H.-P., . . . Chu, R.-M. (2003). Serum C-reactive protein in dairy herds. *Canadian Journal Of Veterinary Research*, 67(2), 102-107.
- Luginbuhl, J., Anderson, K., & Pietrosevoli, S. (2009). Controlando ectima contagioso. *NC State Extension Publications*.
- McDonald, L. E. (1989). *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Hemisferio Sur.
- Mellor, D., Cook, C., & Stafford, K. (2000). Quantifying some responses to pain as a stressor. *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*.
- Mitchell, G., Hatting, J., & Ganhao, M. (1988). Stress in cattle assessed after handling after transport and after slaughter. *Veterinary Record*, 123, 201-205.
- Moberg, J., & Mench, J. (2000). *Biological responses to stress: Implications for Animal Welfare. The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. Oxon, UK: CABI.
- Mold, C., Greshman, H. D., & Du Clos, T. W. (2001). Serum amyloid P component and C-reactive protein mediate phagocytosis through murine FcγRs. *Journal of Immunol*(166), 1200-1205.
- Molina Hernández, S. A. (2000). *Concentraciones de las variables sanguíneas del metabolismo proteico y de las inmunoglobulinas G (Ig G) circulantes en vacas lecheras pre-parto, suplementadas con una pequeña cantidad de afrecho de soya, con y sin minerales trazas quelados*. Santiago, Chile: Universidad Austral .
- Morimatsu, M. (1989). STUDY ON C-REACTIVE PROTEIN AND SERUM AMYLOID P COMPONENT FROM BOVINE SERUM. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 37(2), 122-122.
- Morimatsu, M., Watanabe, A., Yoshimatsu, K., & Fujinaga, T. (1991). Elevation of bovine serum C-reactive protein and serum amyloid P component levels by lactation. *Cambridge University Press*, 257-261.
- OIE - World Organisation for Animal Health. (2013). *FOOT AND MOUTH DISEASE, Aetiology Epidemiology Diagnosis Prevention and Control References*.
- OIE - World Organization for Animal Health . (2013). Fiebre Aftosa. *OIE - Portal sobre la fiebre aftosa*.
- OIE. (2004). *Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biological Products*. OIE.

- OIE. (2006). *Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004 — capítulo actualizado (mayo de 2006)*. OIE.
- OIE. (2019). *ICA*.
- Organización Mundial de Salud Animal. (2018, Agosto 10). *OIE*. Retrieved from Organización Mundial de Salud Animal: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/estatus-sanitario-oficial/fiebre-aftosa/suspensionrestitucion-del-estatus/>
- Organización Panamericana de la Salud. (2011). *Procedimiento para colecta y remisión de muestras para el diagnóstico de enfermedades vesiculares y su diagnóstico diferencial*. Organización Panamericana de la Salud.
- Peñafort, C. (2008). Los bovinos están más adaptados al frío que al calor. *Sociedad Rural de Río Cuarto*.
- Practice Yogeshpriva S adn Selvaraj P Department of Medicine Veterinary Tamilnadu Veterinary And Animal Science University. (2003). En general la CRP se produce en condiciones adversas que puedan favorecer el desarrollo de infecciones agudas. *Canadian Journal Veterinary Research*, 102-107.
- Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. (2015). ¿Qué son las Buenas Prácticas de Vacunación? *Gobierno de México*.
- Reis, L. S., Pardo, P. E., Frazatti-Gallina, N. M., Paoli, R. L., & Oba, E. (2013). Efectos de la primovacunación y la vacunación de refuerzo sobre el cortisol sérico y la respuesta inmune humoral en bovinos. *Department of Medical Clinic, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, Brazil.*, 4(5).
- Rowlands, G. (1980). Metabolites in the blood of Beef and Dairy Cattle. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 172-235.
- Rowlands, G., Little, W., & Kitchenham, B. (1977). Relationship between blood composition and fertility in dairy cows, a field study. *Journal of Dairy Research*, 44, 1-7.
- Rowlands, G., Manston, E., Pocock, R., & Dew, S. (1975). Relationship between stage of lactation and pregnancy and blood composition in a herd of dairy cows and the influences of seasonal changes in management on these relationships. *Journal of Dairy Research*, 42, 349-362.
- Rudolph, W. (1985). *Perfiles bioquímicos en los animales domésticos*. Monografías de Medicina Veterinaria.
- Rushen, J., De Pasille, A., & Munksgaard, L. (1999). Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate milking. *Journal of Dairy Science*, 720-727.

- Rushen, J., Passillé, A. B., & Munksgaard, L. (1999). Fear of People by Cows and Effects on Milk Yield, Behavior, and Heart Rate at Milking. *Journal of Dairy Science*, 720-727.
- Saco, Y., Fábregas, F., Damian, J., Ruiz de la Torre, J., Manteca, X., & Bassois, A. (2002). Serum Haptoglobin as a marker of stress in pigs. *Proceedings of the 10th Congress of the International Society of Animal Clinical Biochemistry*. Gainesville, FL USA.
- Schreiner, D., & Ruegg, P. (2004). Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *Journal of Dairy Science*(85), 2503-2511.
- Schrödl, W., Krüger, M., Hien, T., Földner, M., & Kunze, R. (1995). C-reactive protein as a new parameter of mastitis. *Tierärztliche Praxis*, 23(4), 337-341.
- Seabrook, M. F. (1994). Psychological interaction between the milker and the dairy cow. *Dairy systems for the 21st*, 49-58.
- Selye, H. (1973). The evolution of the stress concept. *American Scientist*, 61(6), 692-699.
- Shrive, A., Agrawal, A., Greenhough, T., & Volanakis, J. (2001). Topology and structure of the C1q-binding site on C-reactive protein. *Journal of Immunology*, 166, 3998-4004.
- Shutt, D. A., & Fell, L. R. (1985). Comparison of total and free cortisol in bovine serum and milk of calostrum. *Journal Dairy Science*, 68, 1832-1834.
- Sykes, A. (1978). An assessment of the value of plasma urea nitrogen and albumin concentrations as monitors of the protein status of sheep. *British Society of Animal Production*(1), 143-154.
- Tadich, N., Gallo, C., & Alvarado, M. (2000). Efecto de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. *Archivo Médico Veterinario*, 32, 171-183.
- Tami, M. C. (1999). *Evaluación de vacunas peptídicas contra el virus de la fiebre aftosa en bovinos: Aislamiento y caracterización de mutantes de escape*. Buenos Aires, Argentina: Biblioteca Digital - FCEN - UBA.
- Tejeda, C. (2006). Asociación entre grado de claudicación, umbrales nociceptivos, valores de haptoglobina y variables fisiológicas en vacas de lechería. *Facultad de Ciencias Veterinaria - Memorias*. Universidad Austral de Chile.
- Termeulen, S., Butler, W. R., & Natze, R. P. (1981). Rapidity of Cortisol transfer between blood and milk following Adrenocorticotropin injection. *Journal Dairy Science*, 64, 2197-2200.
- Thompson, D., Pepys, M., & Wood, S. (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *National Library of Medicine*, 7(2), 169-77.

- Tillet, W., & Francis, T. (1930). SEROLOGICAL REACTIONS IN PNEUMONIA WITH A NON-PROTEIN SOMATIC FRACTION OF PNEUMOCOCCUS. *The Journal of Experimental Medicine*, 52(4), 561-571.
- Tizard, I. (1983). *Inmunología veterinaria*. México: 3a Edición. Interamericana McGraw-Hill.
- Topps, J., & Thompson, J. (1984). *Blood characteristics and the nutrition of ruminants*. London, UK: Her Majesty's Stationery Office.
- Torrente, A. C. (2014). Aspectos diagnósticos y pronósticos de la concentración de albúmina en el paciente canino con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. *Dial Net - Universitat Autònoma de Barcelona*.
- Torres-González, C., López-Espinoza, A., Martínez, A. G., Franco, K., Díaz, F., Sosa, G. A., . . . Cárdenas, A. (2009, Septiembre). Consumo de alimento y endulzantes bajo condiciones de estrés crónico en ratas. *Revista Mexicana de Análisis de Conducta*, 35.
- Universidad de Antioquia. (2011). Bienestar animal en bovinos lecheros. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(3), 293-300.
- Verkerk, G. A., Phpps, A. M., Carragher, J. F., Matthews, L. R., & Stelwagen, K. (1998). Characterization of milk cortisol concentrations as a measure of short-term stress responses in lactating dairy cows. *Animal Welfare*, 7, 77-86.
- Vigushin, D., Pepys, M., & Hawkins, P. (1993). Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *Journal of clinical investigation*, 91(4), 1351-7.
- Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *PubMed*, 38(2-3), 189-197.
- Volanakis, J. E., & Kaplan, M. H. (1974). Interaction of C-reactive protein complexes with the complement system. I. Consumption of human complement associated with the reaction of C-reactive protein with pneumococcal C-polysaccharide and with the choline phosphatides, lecithin and sphingomyelin. *National Library of Medicine*, 112(6), 2135-2147.
- Volanakis, J. E., & Wirtz, K. W. (1979). Interaction of C-reactive protein with artificial phosphatidylcholine bilayers. *Nature*, 281, 155-157.
- Volanakis, J., & Kaplan, M. (1971). Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, 136(2), 612-614.
- Von Keyserlingk, M., Rushen, J., & de Pasille AM, W. (2009). The welfare of dairy cattle - Key Concepts and the role of science. *Journal of Dairy Science*(94), 4101-4111.

- Wagner, W. C., & Oxenreider, S. L. (1972). Adrenal function in the cow, diurnal changes and the effects of lactation and neurophyseal hormones. *Journal Dairy Science*, 34(4), 630-635.
- Warris, P., Brown, S., Knowles, T., Kestin, S., Edwards, J., Dolan, S., & Phillips, A. (1995). Effects on cattle transport by road for up to 15 hours. *Veterinary Record*, 136, 319-323.
- Webster, A. (2001). Farm Animal Welfare: the five freedoms and the free market. (161), 229-237.
- Wellnitz, O., Brucmaier, R. M., Baldi, A., & Stelwagen, K. (2001). Central and peripheral inhibition of milk ejection. *Livestock Production Science*, 70(1), 135-140.
- Wengler, G., Bradley, M., Collet, F., Heinz, R., Schlesinger, W., & Strauss, J. (2001). Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhoea virus type 1. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1), 146-153.
- Whay, H. R., Waterman-Pearson, A., & Webster, A. (1997). Associations between locomotion, claw lesions and nociceptive threshold in dairy heifers during the peripartum period. *The Veterinary Journal*(154), 155-161.
- Wikipedia. (n.d.). Retrieved 08 2020
- Wilson, S. C., Fell, L. R., Colditz, I. G., & Collins, D. P. (2002). An examination of some physiological variables for assessing the welfare of beef cattle in feedlots. *Animal Welfare*, 11, 305-316.
- Wittwer, F. (1983). *Manual de Patología Clínica Veterinaria*. Santiago, Chile: Instituto de Ciencias Clínicas Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Wittwer, F., Contreras, P., Böhmwald, T., & Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebaños lecheros en Chile. *Archivos Médicos Veterinarios*, 19, 35-45.
- World Organisation for Animal Health - OIE. (2019). *Código Sanitario para los Animales Terrestres*.
- Wyss, H. B., Wechsler, J., Merminod, J., & Jemmi, J. (2004). Animal Welfare: between profit and protection. (pp. 217-218). Paris: Global Conference on Animal Welfare: an OIE initiative.
- Xue, F., Zhu, Y., Li, J., Zhu, L., Ren, X., Feng, J., . . . Gao, Y. (2010). Genotyping of bovine viral diarrhoea viruses from cattle in China between 2005 and 2008. *Veterinary Microbiology - Journal - Elsevier*, 143, 379-383.
- Zoetis Salud Animal. (n.d.). www.zoetis.mx. Retrieved from Zoetis: www.zoetis.mx

Zotal Laboratorios. (2009). Cómo prevenir la mastitis .