

XL

Congreso
Nacional

XVI

Congreso
Internacional



SEOC 2015

Castellón de la Plana

16, 17 y 18 de
septiembre



Auditorio y Palacio de
Congresos de Castellón
(Avda. Lledó, 50 - 12003 Castellón)



XL CONGRESO NACIONAL
DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA
(SEOC)
XVL CONGRESO INTERNACIONAL

EDICIÓN COORDINADA POR:

M^a Jesús Alcalde Aldea

Martín Rodríguez García

**EDITORIAL
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**

PATROCINADORES



zoetis



DATAMARS



COLABORADORES



albèitar

Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano-Granadina de la Comunidad Valenciana

Colección Congresos UPV

SEOC 2015.

XL Congreso Nacional y XVI Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Castellón, 16, 17 y 18 septiembre

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por el Comité Científico que en ella se relaciona

Coordinadores de esta edición:

M^a Jesús Alcalde Aldea

Martín Rodríguez García

Editado por :

Editorial Universitat Politècnica de València, 2015

www.lalibreria.upv.es / Ref. : 2002_06_01_01

© de los textos: los autores

La edición de esta publicación está patrocinada por:



Maquetación: Enrique Mateo

Produce: ESMAP

ISBN: 978-84-9048-398-5 (versión usb)

Queda prohibida la reproducción, distribución, comercialización, transformación y, en general, cualquier otra forma de explotación, por cualquier procedimiento, de la totalidad o de cualquier parte de esta obra sin autorización expresa y por escrito de los autores.

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente

Dña. María Jesús Alcalde Aldea
Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC)

Vicepresidentes

D. Ernesto A. Gómez Blasco
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).

D. Luis Miguel Gargallo Gargallo
Colegio de Veterinarios de Castellón de la Plana.

Secretaria ejecutiva

Dña. Avelina Ribelles Villar
ADS de Ovino y Caprino Lechero de Castellón

Vocales

D. Vicente Navarro Marin-Buck
Director Territorial. Consejería de Presidencia y Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua. Generalitat Valenciana.

D. Pedro Antonio Andrés Beltrán
Consejería de Presidencia y Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua. Generalitat Valenciana.

D. Bernat Peris Palau
Consejería de Presidencia y Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua. Generalitat Valenciana.

D. Ion Perez Baena
Universidad Politécnica de Valencia.

Dña. Delia Lacasta Lozano
Universidad de Zaragoza.

Dña Lledó Novo Renau
Desarrollo Rural. Diputación de Castellón.

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente

Dr. Martín Rodríguez García
Universidad Politécnica de Valencia

Vocales

Dra. Isabel Vázquez González
INIA (Reproducción)

Dra. Begoña Panea Doblado
CITA de Aragón (Calidad de Carne)

Dr. Luis Fernando de la Fuente Crespo
Universidad de León (Genética-Etnología y Bienestar)

Dr. Jesse Barandita Iza
Neiker-Tecnalia (Patología).

D. José María González Sainz
GTV_Zaragoza (Sistemas Productivos Ovinos)

Dr. Manuel Sánchez Rodríguez
Universidad de Córdoba (Sistemas Productivos Caprinos)

Dr. Ángel Ruiz Mantecón
CSIC. (Alimentación)

Dr. Luis Pardos Castillo
Universidad de Zaragoza (Economía y Gestión)

XL

Congreso
Nacional

XVI

Congreso
Internacional



SEOC 2015

PRESENTACIÓN



Queridos amigos y compañeros de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Este año celebramos el XL Congreso Nacional y XVI Internacional en Castellón, en nuestra itinerancia volvemos a la Comunidad Valenciana por segunda vez, después del 2002, que visitamos Valencia.

La ciudad castellonense fue fundada en la edad media, allá por el 1200, en aquella época sus habitantes vivían en el Cerro de la Magdalena y se trasladaron a vivir a la zona de la Plana, hecho que todavía se conmemora en unas fiestas, las de La Magdalena, de interés turístico internacional. Si bien, en la zona se encuentran restos que datan del Neolítico.

La actual ciudad es una ciudad costera, con un puerto y un sector industrial bastante desarrollado, aunque la fértil huerta poblada de naranjos también hace que el sector agrícola sea importante. De este modo, Castellón es en la actualidad una ciudad en alza con una industria y artesanía de alta calidad. El ganado ovino y caprino representan un 38% y un 33% del total de la comunidad autónoma, especialmente para producción de leche, con el objeto de la elaboración de quesos, tal y como señalaban nuestros compañeros en la presentación del Comité Organizador.

Castellón nos ofrece volver al mediterráneo disfrutando de sus gentes, costumbres, playas y gastronomía. En esta ocasión, ha sido Avelina Ribelles como miembro de la Junta Directiva de SEOC y como secretaria ejecutiva de esta edición del Congreso, el alma mater encargada de coordinar al Comité Organizador, en el cual contamos con representantes de las principales instituciones de esta ciudad: Instituto Valenciano de

Investigación Agraria (IVIA), Generalitat Valenciana, Colegio Oficial de Veterinarios de Castellón y Diputación Provincial de Castellón. Desde aquí quiero reconocer públicamente todo su apoyo para que este evento llegue a buen fin.

También quisiera agradecer a los numerosos patrocinadores y colaboradores, que este año, una vez más, han apoyado económicamente para que el Congreso pueda desarrollarse. Este año es un placer contar como patrocinador principal a la Agencia Española del Medicamento con quienes hemos colaborado estrechamente para hacer que los medicamentos sean consumidos de forma responsable. Además la Jornada Satélite está organizada por Zoetis, en el congreso más internacional de la SEOC. Sí, porque el “*Annual General Meeting*” del Colegio Europeo de Diplomados en Manejo y Sanidad de los Pequeños Rumiantes se celebra dentro de nuestro Congreso, y hemos aprovechado esta oportunidad para traer eminencias internacionales que participaran, entre otros, en las 11 ponencias y 4 mesas redondas que se desarrollarán en un apretado e intenso programa en los dos días que dura el Congreso.

No quisiera dejar de mencionar a la Junta Directiva que junto al Comité Científico, presidido por Martín Rodríguez, han elegido con especial atención los contenidos de este congreso, que esperamos sean del agrado para todos los asistentes.

Han sido nuevamente alrededor de 80 comunicaciones las enviadas, y como novedad, algunas de ellas serán defendidas por estudiantes de los últimos años de las titulaciones de veterinaria e ingeniería agronómica, incorporando así savia nueva a nuestro congreso. Todo ello, con el objetivo de buscar la transferencia entre el conocimiento científico del más alto nivel, hacia la aplicación práctica, en los ámbitos del sector de los pequeños rumiantes.

Y para acabar estas líneas, queremos desear que esta reunión sea fructífera de intercambio de experiencias profesionales y personales entre todos los asistentes, así como que el contenido de las ponencias resulte de vuestra total satisfacción.

Un cordial saludo

María Jesús Alcalde Aldea

Presidenta de la SEOC

Estimado asistente

Desde el INIA queremos felicitar a la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia y al Comité Organizador por la celebración de este XL Congreso Nacional en Castellón.

El entorno de esta provincia ha acogido durante muchos años una importante actividad económica ligada a los pequeños rumiantes, en explotaciones estantes como trashumantes. La gastronomía de toda la provincia recoge platos típicos y productos lácteos que muestran la importancia de estas producciones.

Para el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria es una satisfacción estar al lado de las personas que hacéis posible esta reunión de profesionales del sector de los pequeños rumiantes. Todos vosotros, que trabajáis en las explotaciones ganaderas, en las empresas de servicios y suministros, en las universidades y en los centros de investigación, sois el eslabón fundamental para mantener la actividad ovina y caprina en nuestros territorios. Por ello agradezco la oportunidad que me brinda la junta directiva de la SEOC para dirigiros unas palabras en este libro de Actas.

El sector ovino y caprino español se enfrenta a muchos retos en la actualidad. Van desde la demanda en unos casos hasta la renovación generacional en otros; de los costes de producción hasta los precios de mercado y su volatilidad en algunos sectores; desde las estructuras de comercialización hasta la eficiencia productiva. Todos estos desafíos son retos de todos y cada uno de los empresarios que constituyen el sector productivo.

Los retos se superan con esfuerzo y dedicación, transformándose en oportunidades. Para ello es preciso desarrollar nuestras estrategias en todos los ámbitos: la producción, la sanidad, la organización, la comercialización, la diferenciación, y así podríamos enumerar un largo etc. Todos estos ámbitos permiten mucha innovación y vosotros, como profesionales, debéis ser los promotores de ese cambio tecnológico y organizativo, aplicando nuevas ideas procedentes del conocimiento. Sin duda, sois un elemento fundamental para conseguir un sector dinámico, competitivo, económico, social y ambientalmente sostenible.

Por todo ello quiero felicitaros por vuestra apuesta por la ciencia y la tecnología el día que decidisteis asistir al XL Congreso de la SEOC.

Un abrazo,

Manuel Lainez Andrés

Director del INIA

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria

XL

Congreso
Nacional

XVI

Congreso
Internacional



SEOC 2015

ÍNDICE DE CONTENIDOS



PATROCINIO	iii
-------------------	-----

COMITÉ ORGANIZADOR Y COMITÉ CIENTÍFICO	v
---	---

PRESENTACIÓN

María Jesús Alcalde Aldea Presidenta de la SEOC	vii
--	-----

Manuel Lainez Andrés Director del INIA	ix
---	----

ÍNDICE DE CONTENIDOS	xii
-----------------------------	-----

PONENCIAS

Haemoparasites in small ruminants in european countries: challenges and clinical relevance Stuen, S.	2
---	---

Aspectos prácticos de manejo en Pequeños Rumiantes que afectan al Bienestar Animal:

Manejo de animales en términos de Bienestar Animal Sánchez Mejías, J. M.	14
---	----

Normativa legislativa bienestar en pequeños rumiantes Peris Palau, B.	18
--	----

Assessing welfare in small ruminants' farms Stillwell, G.	24
--	----

Pain management to improve ruminant farm welfare Windsor, P. A.; Lomax, S. and White, P.	26
---	----

¿Qué aportan los análisis clínicos a la hora de evaluar el estado de salud y producción de un rebaño? La validez de los perfiles metabólicos Castillo, C.	35
Modificaciones de las características de la carne y de la leche mediante la alimentación Manso, T.; Gallardo, B. y Guerra-Rivas, C.	56
Emergence of PPR and its threat to Europe Parida, S.; Muniraju, M. y Mahapatra, M.	74
Lengua azul: situación actual y perspectivas de futuro. ¿Es posible su erradicación?	
Experiences from the current (2014-15) outbreak of bluetongue in Greece Vasileiou, N.G.C.; Chatzopoulos, D.C.; Giannakopoulos, A.; Ioannidi, K.S.; Valiakos, G.; Amiridis, G.S.; Chouzouris, T.M.; Athanasiou, L.V.; Mavrogianni, V.S.; Papadopoulos, E.; Kyriakis, K.S.; Birtsas, P.; Spyrou, V.; Billinis, C. and Fthenakis, G.C.	90
Situación epidemiológica actual de la lengua azul en España Romero, L.J.; Moreno, I.; Álvarez, M. Y Muñoz, B.	96
Estrategia de control/erradicación para la lengua azul en España Pérez de Diego, A.C. , Vigo, M. y Yuste, J.T.	102
El vector: nuevos conocimientos, implicaciones en un plan de control Lucientes, J.	110
Leche sin residuos ni contaminantes: controles para una producción responsable y de calidad en pequeños rumiantes Berruga, M.I. ; Molina, A.; Altahus, R.L. y Molina, M.P.	116
Monográfico Cebo: instalaciones, alimentación y sanidad	
Instalaciones de cebo de corderos Rodríguez, M. y Fernández, N.	137
Nutrición en corderos de cebo Bello, J.M.	153
La producción de corderos de cebo en España. Aspectos sanitarios más relevantes González, J. M.	162
Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencia a los antibióticos Muñoz, C.	175
Perspectiva Europea del Sector dE los Pequeños Rumiantes. Campañas de promoción de consumo	
El futuro de la Política Agraria Común en el sector del ovino Trenzado, G.	185

Re-invigorating European lamb consumption Morris, S.	187
Perspectiva europea del sector de los pequeños rumiantes. Campañas de promoción de consumo Blay, M.	193
Automatismos y sistemas de gestión en granjas de Pequeños Rumiantes Alejandro, M.	197

COMUNICACIONES

ALIMENTACIÓN

<i>Posidonia oceanica</i> en la nutrición de cabras de leche: primeros datos metabólicos y productivos Castillo, C.; Mantecón, A.R.; Sotillo, J.; Gutiérrez, C.; Abuelo, A. y Hernández, J.	209
<i>Posidonia oceanica</i> in dairy goat's ration: metabolic and productive results	
Caracterización nutritiva, ingestión y efecto sobre la producción de leche en cabras Murciano-Granadinas del forraje Maralfalfa (<i>Pennisetum</i> sp) vs. Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>); datos preliminares Criscioni, P.; Valladares, E.J.; Pérez-Baena, I.; Martí, J.V.; Palomares, J.L.; Estellés, F. y Fernández, C.	216
Efecto del tipo de pasto sobre el contenido en retinol y tocoferol en leche y sangre de cabras y en sangre de cabritos de raza Payoya Berzal, N.; Pina, A.M.; Álvarez, R.; Panea, B.; Córdoba, M.G. y Alcalde, M.J.	222
Efecto de la incorporación de pulpa de naranja en la dieta de cabras lecheras sobre la producción y composición de la leche Rodríguez, M.; López, M.C.; Domínguez, M.J.; Pérez-Baena, I.; Fernández, N. y Peris, C.	228

CALIDAD DE CARNE

Características físico-químicas de hamburguesas de cordero especiadas con romero o tomillo Cózar, A.; Linares, M.B.; Garrido, M.D. y Vergara, H.	235
Calidad higiénico-sanitaria de hamburguesas de cordero especiadas con romero o tomillo Cózar, A.; Linares, M.B.; Garrido, M.D. y Vergara, H.	241
Influencia del sistema de lactancia sobre la valoración sensorial de la carne de cabrito: opinión de los consumidores Panea, B.; Ripoll, G.; Albertí, P.; Córdoba, M.G. y Alcalde, M.J.	248

Efecto del sexo y del peso al sacrificio sobre la conformación de la canal de la raza ovina autóctona de la comunidad de Madrid Rubia de El Molar Miguel, E.; Blázquez, B. y Ruiz de Huidobro, F.	254
Medidas objetivas y subjetivas de la conformación y del estado de engrasamiento de la canal como predictoras de la calidad sensorial de la carne de cordero Rubio de El Molar Miguel, E.; Blázquez, B. y Ruiz de Huidobro, F.	260
Medidas objetivas y subjetivas de estimación de la conformación y del estado de engrasamiento de la canal para la predicción de la textura instrumental de la carne de cordero Rubio de El Molar Miguel, E.; Blázquez, B. y Ruiz de Huidobro, F.	266
Rendimiento productivo y calidad de carne de corderos alimentados con torta de crambe Bueno, M.S.; Barbosa, C.M.P.; Canova, E.B.; Moreira, E.L.; Issakowicz, J. y Sampaio, A.C.	272
Mioglobina superficial de carne de ovino almacenada al vacío en refrigeración y congelada-descongelada Coria, H. J.; Llorente B. A. y Álvarez, S. A	277
Características de crecimiento de cabritos Murciano-Granadinos puros y procedentes del cruce con sementales especializados cárnicos de la raza Boer Pérez-Baena, I.; Jarque-Durán, M.; Franch-Dasí, J.; Fernández, N.; Rodríguez, M.; Gómez, E.A.; Martí, J.V. y Peris, C.	283
Características de la canal de cabritos Murciano-Granadinos puros y procedentes del cruce con sementales especializados cárnicos de la raza Boer Pérez-Baena, I.; Jarque-Durán, M.; Franch-Dasí, J.; Fernández, N.; Rodríguez, M.; Gómez, E.A.; Palomares, J.L. y Peris, C.	289
 CALIDAD DE LECHE <hr/>	
Queso castellano. Caracterización físico-química, instrumental y sensorial de los quesos de leche pasteurizada de oveja. I parte: caracterización físico-química Rodríguez, L.A.; Asensio, C.; Delgado, D. y Gredilla, A.E.	296
Queso castellano. Caracterización físico-química, instrumental y sensorial de los quesos de leche cruda de oveja. II parte: caracterización instrumental (color y análisis de imagen) Rodríguez, L.A., Asensio, C. y Delgado, D.	302
Queso castellano. Caracterización físico-química, instrumental y sensorial de los quesos de leche pasteurizada de oveja. III Parte: caracterización sensorial Rodríguez, L.A.; Asensio, C. y Delgado, D.	309
Nuevos métodos aplicados al control de la higiene de los equipos y salas de ordeño en explotaciones ovinas y su relación con la calidad higiénico sanitaria de la leche: primeros resultados Villamediana, R.; Gonzalez, M.G.; Tabernero de Paz, M.J.; Bodas, R.; Rodríguez, L.A.; Delgado, D.; Asensio, C. y Bueno, F.	316

Características físico-químicas e higiénico-sanitarias de la leche de cierva ibérica (<i>Cervus elaphus hispanicus</i>) De la Vara, J.A.; García, A.; Landete-Castillejos, T.; Gallego, L.; Molina, A. y Berruga, M.I.	323
Principales grupos bacterianos presentes en leche de tanque en explotaciones ovinas de Castilla y León. Parte I: determinación y cuantificación Villamediana, R.; Gonzalez, M.G.; Rodríguez, L.A.; Bueno, F.; Delgado, D.; Asensio, C.; Arias, R.; Perez-Guzman, M.D. y Garzon, A.	329
Principales grupos bacterianos de leche de tanque en explotaciones ovinas de Castilla y León. Parte II: relación entre los parámetros higiénico-sanitarios Villamediana, R.; Gonzalez, M.G.; Rodríguez, L.A.; Bueno, F.; Delgado, D.; Asensio, C.; Arias, R.; Perez-Guzman, M.D. y Garzon, A.	336
Variación de la calidad higiénico-sanitaria de la leche en ganaderías de ovino de Castilla y León Villamediana, R.; Gonzalez, M.G.; Rodríguez, L.A.; Bueno, F.; Delgado, D.; Asensio, C.; Perez-Guzman, M.D.; Jiménez, L.; Garzon, A. y Arias, R.	343
Optimización de un bioensayo con <i>Bacillus subtilis</i> para la detección de antibióticos en leche de cabra Giraldo, J.; Nagel, O.; Beltrán, M.C.; Molina, M.P. y Althaus, R.L.	350
Presencia de quinolonas en queso fresco de cabra Quintanilla, P.; Beltrán, M. C.; Romero, T.; Escriche, I. y Molina, M. P.	356
Efecto de la presencia de ciprofloxacina en la elaboración y las características del yogur de cabra Morai-Pirlog, A.; Beltrán, M. C.; Quintanilla, P.; Giraldo, J.; Escriche, I. y Molina, M. P.	363
Presencia de vitamina a en explotaciones de ovino de leche en Castilla y León: efecto del tipo de explotación, mes y producción individual Pina, A.M.; Berzal, N.; Álvarez, R.; Villamediana, R.; González, M.G.; Rodríguez, L.A. y Alcalde, M.J.	370
Efecto del calentamiento de la cuajada sobre las características físico-químicas del queso de oveja Guirra Escolar E.; Valeriano A. y Rodríguez M.	376
Efecto del calentamiento de la cuajada sobre las características organolépticas del queso de oveja Guirra Escolar, E.; López, M.C.; Valeriano A.y Rodríguez M.	383
Variabilidad del punto crioscópico y la lactosa en la leche de cabra en la Comunidad Valenciana Martínez, A.; Escolar, E.;Romero, T.; Pérez-Baena, I. y Peris, C.	389
Estudio de la adición de cloruro sódico, sacarosa y leche en polvo a la leche cruda de cabra para enmascarar la presencia de agua añadida Martínez, A.; Escolar, E.;Romero, T.; Perez-Baena, I. y Peris, C.	395

<p>Prevalencia de mastitis subclínica en hatos caprinos de producción familiar en Matehuala, San Luis Potosí, México Guerrero-Loredo, A.; Velázquez-Ordoñez, V.; Rebollo-Hernández, J.; Acosta-Dibarrat, J.; Valladares-Carranza, B.; Barbabosa-Pliego, A. y Bedolla-Cedeño, C.</p>	403
<p>Concentración mínima inhibitoria de 17 antimicrobianos en aislamientos caprinos de <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>capri</i> Paterna, A.; Tatay-Dualde, J.; Prats-Van Der Ham, M.; Gómez Martín, A.; Amores, J.; Corrales, J.C.; Contreras, A.; De la Fe, C. y Sánchez, A.</p>	408
<p>Primeras evidencias de plasticidad genómica en cepas de <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>capri</i> aisladas en España Gómez-Martín, A.; Paterna, A.; Prats-Van Der Ham, M.; Tatay-Dualde, J.; Amores, J.; Corrales, J.C.; Sánchez, A.; Contreras, A. y De la Fe, C.</p>	415
<p>Presencia de <i>Mycoplasma agalactiae</i> en la vagina y el prepucio de cabras y sementales caprinos portadores asintomáticos Gómez-Martín, A.; Paterna, A.; Prats-van der Ham, M.; Tatay-Dualde, J.; Amores, J.; Corrales, J.C.; Sánchez, A.; Contreras, A. y De la Fe, C.</p>	421
<p>Resistencia a los antibióticos de <i>Escherichia coli</i> aisladas de heces de corderos en el estado de México González, A.; Enríquez, E.; Talavera, M.; Soriano, E.; Montes de Oca, R.; Garcia, C.; Velázquez, V. y Acosta, J.</p>	426
<p>Identificación molecular de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> aislados de muestras de casos clínicos de linfadenitis caseosa en ovinos y caprinos y su relación con las características clínicas de los abscesos Hernández, F.; Acosta, J.; Vázquez, J. y Montes de Oca, R.</p>	432
<p>Lactato dehidrogenasa: un potencial biomarcador para el diagnóstico de la mamitis subclínica en el ganado caprino Gómez-Gascón, L.; Galán-Relaño, A.; Cardoso-Toset, F.; Astorga, R.J.; Arévalo-Rodríguez, M. y Gómez-Laguna, J.</p>	438
<p><i>Mycoplasma mycoides</i> subsp <i>capri</i> aislados de cabras sanas y enfermas: prevalencia y tipificación Miranda-Morales, R.E.; Jimenez, M.A.; Rojas, T.V. y Trigo F. J.</p>	445
<p>Evaluación de una PCR dúplex para el diagnóstico de la agalaxia contagiosa en ganado caprino lechero Cardoso-Toset, F.; Gómez-Gascón, L.; Cañete-Buenestado, M.; Esnal, A.; Andrade, D.; Astorga-Márquez, R.J. y Gómez-Laguna, J.</p>	451
<p>Vacunación frente a paratuberculosis en un rebaño caprino a diferentes edades. Estudio de la respuesta inmune periférica Royo, M.; Fuertes, M.; Fernandez, M.; Castaño, P.; Manga-González, Y.; Ferreras, M.C.; Benavides, J. y Pérez, V.</p>	456

Infección experimental por <i>Toxoplasma gondii</i> en el primer, segundo y último tercio de gestación en ovejas. Respuesta lesional y distribución del parásito	
Castaño, P.; Fuertes, M.; Regidor-Cerrillo, J.; González-Lanza, C.; Moreno-Gonzalo, J.; Ferre, I.; Fernández, M.; Ferreras, M.C.; Katzer, F.; Ortega-Mora, L.M.; Pérez, V. y Benavides, J.	463
Detection of antibodies against <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> in dairy goats by two ELISAs	
Rerkyusuke, S. and Ganter, M.	469
Establishment of a differential diagnosis of the major abortive diseases in small ruminants: first evaluation in Midi-Pyrénées, in the south of France	
De Cremoux, R.; Pouget, C. and Lacz, C.	476
Tumores en ganado ovino sacrificado en matadero	
Pérez-Martínez, C., Domínguez, G.; García-Marín, J.F.; Gayo, E. y García, M.J.	483
Tuberculosis en ovino: epidemiología, patología y evaluación de técnicas diagnósticas	
Muñoz-Mendoza, M.; Romero, B.; García-Marín, J.F.; Menéndez, S.; Mourelo, J.; Sáez, J.L. y Balseiro, A.	487
Presencia de infección y lesiones mínimas en mama y otros tejidos en ovinos afectados de Maedi-Visna	
Gayo, E.; Polledo, L.; Perez, C.; García Iglesias, M.J.; Balseiro, A. y García-Marín, J.F.	493
Timpanismo crónico recidivante en ganado ovino: estudio de dos casos	
Valero, M.; Ferrer, L.M.; Climent, M.; Figueras, L.P.; Navarro, T.; Ruiz de Arcaute, M. y Ramo, M.A.	498
Valoración del azul de metileno en dermatomicosis ovinas	
Moros, E., Ramos, J.J.; Rezusta, A.; Pérez, V.; Ferrer, L.M.; Navarro, T.; Martínez, M. y Lacasta, D.M.	504
Improvement of bacteriological diagnosis for intra-mammary infections and contagious agalactia in small ruminants	
Bergonier, D.; Perennes, S.; Totain, E. and Foucras, G.	510
Anaplasmosis en varios rebaños ovinos de la comarca del Matarraña (Teruel)	
Fanlo, T.; Jimenez, C.; Lorenzo, M.; Borobia, M.; Benito, A.; Lorenzo, N.; Millian, M.E. y Lacasta, D.	516
Pseudotuberculosis: estudio retrospectivo	
Navarro, T.; Lacasta, D.; Ferrer, L.M.; Ramos, J.J.; Bueso, J.P.; Figueras, L. y Martínez, M.	523
¿Es el pulmón un órgano mentiroso? Estudio clínico sobre la concordancia entre auscultación y lesión	
Saura, F.; Navarro, T.; Rivera, J.; Ramon, S.; De las Heras, M. y Lacasta, D.	529

Principales causas de desecho en el ganado ovino de carne de la provincia de Zaragoza Jorba, M.; Ortín, A.; Navarro, T.; Martínez, M.; Figueras, L.; Lacasta, D.; Ramos, J.J. y Ferrer, L.M.	535
¿Adenocarcinoma nasal enzoótico y adenocarcinoma pulmonar ovino en una misma oveja? Ramón, S.; Rivera, J.; Saura, F.; Badiola, J.J.; Lacasta, D. y Ortín, A.	541
El monitoreo de pseudotuberculosis de cabras en Baviera (2009-2014) Domes, U.; Bauer, B.; Janowitz, B. y Boettcher, J.	547
Diarrea en una explotación de ovino de carne Lucas Peña, M.A.	550
Floppy kid syndrome – <i>status quo</i> , and new observations from practice Gufler, H.	556
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> infection in an adult Boer goat – a case report Helmer, C.; Eibach, R.; Kleinschmidt, S. y Ganter, M.	559
Zinc deficiency – an overview Humann-Ziehank, E.	562

PRODUCCIÓN CAPRINA

Tipificación de granjas caprinas en el sur de España (I): valoración sanitaria y productiva Jiménez, R.; Barrero, B.; Astorga, R.J., López, M.D.; Andrade, J.D. y Sánchez, M.	568
Tipificación de granjas caprinas en el sur de España (II): implementación de medidas correctoras Barrero, B.; Jiménez, R.; Sánchez, M.; Gómez-Laguna, J.; Reguillo, L y Astorga, R.J.	574
¿Las cabras que más leche producen son las más lentas o las más rápidas en ordeñarse? Blasco, E.; Peris, C.; Vicente, C.; Vidal, G.; Perez-Baena, I. y Gómez, E.A.	579
Efecto de los retiradores automáticos de pezoneras (ACR) en el estado del pezón de los pequeños rumiantes Bueso-Rodenas, J.; Romero, G.; Arias, R.; Rodríguez A.M.; Gascó M.P. y Díaz, J.R.	585
Relación entre recuento celular, producción lechera, contenidos graso y proteico de la leche e ingresos económicos por leche en la cabra Murciano-Granadina Pleguezuelos, F.J.; De la Fuente, L.F. y Gonzalo, C.	591

PRODUCCIÓN OVINA

Efecto del manejo (ayuno o no) durante la espera previa al sacrificio sobre los parámetros fisiológicos de bienestar animal en corderos de raza Merina Cózar, A.; Rodríguez, A.I.; Garijo, P.; Calvo, L y Vergara, H.	597
--	-----

Producción de agua caliente en explotaciones de ovino lechero: adecuación a las necesidades Tabernero de Paz, M.J.; Posado, R.; García-García, J.J.; Rodríguez, L.A. y Bodas, R.	603
Efecto del manejo sobre la huella de carbono en explotaciones de ovino lechero Mandaluniz, N.; Mingo, A.; Batalla, I.; Sáez, J.; Del Hierro, O. y Ruiz, R.	609
Caracterización de sistemas de producción ovina en el Estado de México. I. Aspectos generales y sociales Antúnez S.S. y de Lucas, T.J.	615
Caracterización de sistemas de producción ovina en el Estado de México. II. Aspectos productivos y económicos Antúnez S.S. y de Lucas, T.J.	621
Aproximación a un sistema de evaluación del bienestar en cebaderos de corderos Bello, J.M.; mantecón, A.R.; Ruiz, S.; Alvarez, C.; Muñoz, V. y Lavin, P.	627
Avances en la aceptación de tecnologías y manejos en productores ovinos del sector social en Tlaxcala, México Salvador, F.O.; Castillo, H.G.; Pérez, R.M.A. y de Lucas, T.J.	634
Impacto de la aplicación de tecnologías y manejos sobre parámetros productivos en rebaños ovinos del sector social en Tlaxcala, México Salvador, F.O.; Castillo, H.G.; Pérez, R.M.A. y de Lucas, T.J.	641
Evaluación de las características socioeconómicas de los sistemas de producción caprina en el estado de Tlaxcala, México Pérez, R.M.A.; Quiroz, M.M.I.; Ambrosio, S.J.I.; de Lucas, T.J. y Salvador, F.O.	647
REPRODUCCIÓN	
Evolución de la temperatura perineal en respuesta a la sincronización del celo en ovejas de raza Churra Bodas, R.; Tabernero de Paz, M.J.; Rodríguez, L.A.; Posado, R. y García-García, J.J.	654
Interacción de ovejas primas con sementales al inicio del apareamiento González, L.S.; Castillo, H.L.; Salvador, F.O.; Pérez, R.M.A. y de Lucas, T.J.	661
Estudio preliminar sobre la elección del carnero por ovejas primas durante el apareamiento Castillo, H.L.; González, L.S.; Salvador, F.O.; Pérez, R.M.A. y de Lucas, T.J.	667
Variaciones estacionales en el contenido de Na, K y proteína total del plasma seminal de la raza caprina Murciano-Granadina Fajardo, A.; Casares-Crespo, L.; Gómez, E.A. y Viudes de Castro, M.P.	673

XL

Congreso
Nacional

XVI

Congreso
Internacional



SEOC 2015

PONENCIAS



STUEN, S.

Norwegian University of Life Sciences, Department of Productive Animal Clinical Sciences, N-4325 Sandnes, Norway.
snorre.stuen@nmbu.no

ABSTRACT

Small ruminants could be infested with several haemoparasites in Europe, whereas most of them are transmitted by ticks. Anaplasmosis, babesiosis and theileriosis are the most important tick-borne diseases in small ruminants. In Europe, the main tick species associated with small ruminants are *Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Rhipicephalus bursa* and *Ixodes ricinus*, whereas *I. ricinus* is the dominant species. Tick-borne pathogens may cause mild or unspecific clinical manifestations, an active surveillance is therefore necessary in order to investigate the real distribution of these pathogens. The present review focus on the following haemoparasites: *Anaplasma ovis*, *A. phagocytophilum*, *Babesia ovis/motasi* and *Theileria* spp. Climate change in Europe may have an effect on the distribution and establishment of ticks and tick-borne infections. In addition, millions of ticks are annually spread by migrating birds, making the possibility for ticks and pathogens to be transmitted and established in new geographical areas. Integrated tick control strategies should be implemented in order to control these infections. These strategies must be based on host resistance to ticks and to the infections they transmit, strategic tick control on the actual pastures, cost/benefit analyses of the acaricidal applications and the availability of vaccines against ticks and tick-borne diseases. However, controls of ticks and tick-borne infections are a challenging issue.

Key words: Europe, haemoparasites, small ruminants

INTRODUCTION

Tick-borne pathogens could cause serious infections in several mammal species, including small ruminants and humans. Several ticks have been found associated with small ruminant worldwide (Taylor *et al.*, 2007). In Europe, at least 12 species have been found on sheep, whereas the main tick species associated with small ruminants are *Dermacentor marginatus* (“the ornate sheep tick”), *Haemaphysalis punctata* (“the red sheep tick”), *Ixodes ricinus* (“the sheep tick”) and *Rhipicephalus bursa* (Estrada-Pena *et al.*, 2004). Of these ticks, *I. ricinus* is widely distributed especially in northern Europe, while more scattered distribution has been reported for *H. punctata*, *D. marginatus* and *R. bursa* in southern Europe. However, climate change in Europe may have an effect on the distribution and establishment of populations of ticks, and climate-warming models predict that several tick species are likely to establish more northern permanent populations (Gray *et al.*, 2009). In addition, millions of ticks are annually spread by migrating birds, making the possibility for ticks and pathogens to be transmitted and established in new geographical areas. In the last decades, the range of for instance *I. ricinus* seems to have increased to more inland and northern areas (Jaenson *et al.*, 2012).

TICK-BORNE INFECTIONS

The present review focus on tick-transmitted haemoparasites such as: *Anaplasma ovis*, *A. phagocytophilum*, *Babesia ovis/motasi* and *Theileria* spp. The infection prevalence in ticks may vary within geographical areas, between pastures, during the grazing season and also from year to year. Data on prevalence and especially on incidence of these infections in Europe are however scarce.

Anaplasmosis

Species

Anaplasmosis in sheep and goats is caused by *Anaplasma ovis*. In addition, a similar pathogen, *A. mesaeterum*, may also cause anaplasmosis in small ruminants. Both are obligate pathogens of erythrocytes (Dumler *et al.*, 2001; Uilenberg *et al.*; 1979). *A. ovis* has a wide host range (Friedhoff, 1997).

Distribution

Anaplasmosis, caused by *A. ovis*, is one of the most widespread tick-borne diseases in the Mediterranean countries, and has been reported from

Bulgaria, France, Germany, Greece, Hungary, Italy, Portugal, Romania and Turkey. *A. mesaeterum* has only been reported in the Netherlands. *A. ovis* has a wide host range including several deer species. The infection is spread by a variety of ticks, particular *Rhipicephalus* and *Dermacentor* species, in Europe mainly by *R. bursa* (Friedhoff, 1997; Rennecker *et al.*, 2013). The northernmost distribution of *A. ovis* so far seems to be Hungary (Hornok *et al.*, 2007). An active surveillance is however necessary in order to investigate the real distribution.

Clinical expression

A. ovis is commonly reported as haemolytic anaemia in sheep and goats. Recently, human anaplasmosis involving an *A. ovis* variant has been detected in Cyprus (Chochlakis *et al.*, 2010). Anaplasmosis in sheep is normally subclinical. Outbreaks of severe illness in sheep are rare, and seem to occur only under extreme conditions (Friedhoff, 1997). However, infection with *A. ovis* may predispose animals to other infections and parasite infestation resulting in clinical disease or even death (Kocan *et al.*, 2004). Anaplasmosis can therefore be a serious disease in sheep. Several strains/variants of *A. ovis* exists (de la Fuente *et al.*, 2005; 2007), that may have an impact of sheep`s health and thus their milk and meat production (Ndungu *et al.*, 1995). *A. ovis* appears to be more pathogenic for goats than for sheep, but this may be related to strains/variants and animal breeds involved. The bacterium may cause a persistent infection, and clinical cases are then mostly identified during periods of nutritional stress (Ilemobade, 1982; Palmer *et al.*, 1998). *In utero* transmission of *A. ovis* has been recorded in both sheep and goats (Barry *et al.*, 1990) that may cause anaemia and death of fetus *in utero* (Barry and van Niekerk, 1990). Earlier studies indicate that several genera and species may be involved in the transmission of *A. ovis*, such as for instance *Melophagus ovinus* (Hornok *et al.*, 2011; Rennecker *et al.*, 2013).

Diagnostics

The organisms can be detected on erythrocytes by microscopy of stained blood smears early in clinical disease (Dumler *et al.*, 2001). However, the parasitaemia may be low. Detection of *A. ovis* may also be done by PCR and gene sequencing (Palmer *et al.*, 1998; Torina *et al.*, 2012). In addition, several serological tests are available, such as the capillary tube agglutination and ELISA (Mallick *et al.*, 1979; Ndungu *et al.*, 1995). Necropsy of infected animals may show watery blood, pallor, icteric tissues and increasing amount of fluid in the body cavities. In addition, the liver may be enlarged (Smith and Sherman, 2009).

Treatment and control

Treatment is most efficient during the bacteremic phase of the infection and is directed at reducing the rate of erythrocyte infection, although treatment during the prepatent period does not prevent bacteraemia. Stress should be avoided during handling and treatment. Oxytetracycline or tetracycline hydrochloride has been used successfully to treat clinically affected goats given once a day for one or two days). However, five day treatment will not eliminate the carrier state (Smith and Sherman, 2009).

Efforts should be focused on controlling tick infestation through regular dipping, spraying or pour-on treatment. No specific vaccine for *A. ovis* is currently available. In case of an outbreak, prophylactic antibiotic administration might be used to prevent spread of the infection (Smith and Sherman, 2009). However, all these treatments are not environmentally friendly.

Species

Anaplasma phagocytophilum

Tick-borne fever (TBF) is caused by *A. phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*). The infection has mainly been associated with *I. ricinus* ticks, but has also been found in *I. persulcatus*, *I. trianguliceps* and *H. punctata*.

Distribution

Although *A. phagocytophilum* is widespread in Europe, the infection seems to cause severe infection in sheep mainly in northern Europe. The reason for this is unknown, but may be due to different grazing management and variants of the bacterium involved (Stuen, 2003).

Clinical expression

The most characteristic symptom of the disease in domestic ruminants is high fever; although clinical signs may vary according to the age of the animals, the variant of *A. phagocytophilum* involved, the host species and immunological status of the host (Stuen and Longbottom, 2010).

TBF is seldom fatal, unless complicated by other infections. However, the infection may cause immunosuppression for at least six weeks and makes affected animals vulnerable to secondary infections, such as tick pyaemia (caused by *Staphylococcus* spp.) or *Bibersteinia* / *Mannheimia* septicaemia (Foggie, 1951; Stuen and Longbottom, 2003). Other complications include abortion and reduced milk yield in females, impaired spermatogenesis in males, and reduced weight gain in young animals. Several genetic variants of the organism have been

found which may have a variable degree of clinical reactions and cross-protective immunity. Recent investigation indicates that there may be natural enzootic cycles among different strains of *A. phagocytophilum* (Bown *et al.*, 2009). Another important aspect of this infection is that it may cause persistent infections in sheep for several months or even years, and variants of *A. phagocytophilum* may therefore be carried between geographical areas by purchasing infected animals (Foggie, 1951; Stuen, 2003).

Diagnostics

The diagnosis is normally made by blood smears investigation during the acute (feverish) phase of the infection. Otherwise, PCR and serology are available in diagnostic purposes. In fatal cases, an enlarged spleen is often an indication of an *A. phagocytophilum* infection (Stuen, 2003).

Treatment and control

Current control strategies are based on the reduction of tick infestation by chemical acaricides at turn out on tick pasture. This is mostly done by dipping or pour-on applications of pyrethroids (Stuen, 2003; Woldehiwet and Scott, 1993). This treatment has to be repeated several times during the tick season. In the UK long-acting tetracycline is also used as a prophylactic measure given before animals are moved from tick-free environment into tick-infested pasture (Woldehiwet, 2007; Brodie *et al.*, 1988). However, there is a growing concern about the environmental safety and human health, increasing cost of chemical control and the increasing resistance of ticks to pesticides (Samish *et al.*, 2004).

Another strategy to reduce the losses due to TBF is to infect the lambs as early as possible. However, this practice is only feasible if the lambs are infected immediately after birth, since three to six week old lambs are very susceptible to the infection (Stuen, 2003).

A vaccine against *A. phagocytophilum* is not yet available. In order to develop a vaccine, the challenge is to choose the right antigens that are conserved among all variants of *A. phagocytophilum*. Identification of epitopes involved in protective immunity combined with the discovery of cytokines involved in pathogenesis is encouraging for future vaccine development (Zhi *et al.*, 1999).

Babesiosis

Species

Babesiosis in sheep is worldwide in most tropical and subtropical countries, where the main species are *Babesia ovis*, *B. motasi* and

B. crassa. The situation regarding *Babesia* spp. of small ruminants is rather confusing and include several new and unidentified strains (Guan *et al.*, 2012).

Distribution

B. ovis (small species) is the most pathogen species and is widespread in southern Europe. *Rhipicephalus* ticks, such as *R. bursa*, *R. sanguineus* and *R. turanicus* have been implemented in the transmission of *B. ovis*, but *R. bursa* is the only vector so far that is reported to transmit *B. ovis* transovarially (Esmailnejad *et al.*, 2014). Disease occurs mainly in the period when the adult tick stage becomes active (Yeruham *et al.*, 1998). *B. motasi* (large species) seems to be less pathogenic than *B. ovis* and is associated mainly with the tick *H. punctata*. *B. motasi* may consist of at least two species/subspecies which may differ in pathogenicity. Studies indicate that variants of *B. motasi* from northern Europe are less pathogenic than southern variants (Uilenberg, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

In southern Europe, strains/variants of *B. motasi* may cause severe disease and death (Friedhoff, 1997). In northern Europe, *B. motasi* has so far been diagnosed only from the British Isles, Germany, Netherlands and Sweden (Woldehiwet, 2007). The distribution of *B. motasi* in southern Europe is unknown - it has been detected in France, Italy, Spain and Turkey (Friedhoff, 1997; Salvini *et al.*, 1999; Ros-Garcia *et al.*, 2013). *B. motasi* seems to be of little economic importance in northern Europe.

In Europe, *B. crassa* has been, to my knowledge, only been detected in sheep in Turkey, and is known only in areas where *Hyalomma* spp. and *Rhipicephalus* spp. are common. An active surveillance on *Babesia* infection in small ruminants is however lacking, which may be impaired by the lack of diagnostic tools available.

Clinics

Acute babesiosis caused by *B. ovis* is characterized by apathy, fever, anaemia, jaundice and haemoglobinuria, and in some case mortality may occur. *Babesia* infections varying in the degree of severity, associated with the host, age, immunity and health status. Infection is normally mild in indigenous sheep, with severe signs mainly related to animals introduced from non- endemic areas. Animals that survive the acute infection become low level carriers and could be persistently infected for years without apparent clinical signs (Uilenberg, 2006). *B. motasi* produce normally mild clinical response characterized by fever, haemoglobinuria and anaemia, but alone is rarely responsible for significant death losses (Taylor *et al.*, 2007). *B. ovis* may persist in the

blood of infected sheep for two years and ticks feeding on these animals during this period may become infected (Habela *et al.*, 1990). Remission of parasitaemia may occur under stressful conditions, such as poor nutrition and other infections (Yeruham *et al.*, 1998).

Diagnosis

Diagnosis is based on the presence of high fever, anaemia, jaundice and haemoglobinuria, and demonstration of typical protozoa in the peripheral blood. Examination of blood smears with for instance Giemsa-staining will reveal the parasites in the erythrocytes. However, intraerythrocytic stages in the circulating blood rarely exceed a few percentages during the acute phase of the infection and may be difficult to detect by blood smear microscopy (Yeruham *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2007; Chauvin *et al.*, 2009). However, PCR and serological tests are available (Taylor *et al.*, 2007), especially PCR-analysis could be used to detect a subclinical *B. ovis* infection (Ros-Garcia *et al.*, 2013; Esmaeilnejad *et al.*, 2014; Horta *et al.*, 2014).

Treatment and control

Earlier results indicate that treatment of babesiosis (*B. ovis* infection) with imidocarb dipropionate was efficient (McHardy *et al.*, 1986). In addition, diminazene aceturate is effective against *B. ovis*, but the use of this compound has been withdrawn from Europe for marketing reasons. However, development of new drugs is under research (Taylor *et al.*, 2007; Mosqueda *et al.*, 2012).

Topical application of acaricides may provide some level of protection, but may be difficult to apply in sheep, expensive and may have a negative cost benefit.

Theileriosis

Species

Theileria genotypes in small ruminants comprises a heterologous group and in Europe consists of several types such as *T. lestoquardi*, *T. ovis*, *T. recondite*, *T. separata*, *Theileria* sp. OT1 and OT3 (Taylor *et al.*, 2007; Nagore *et al.*, 2004).

Distribution

Theileria spp. are widely distributed in southern Europe, and have a variety of tick vectors.

The main species found in Europe seems to be *Theileria* sp. OT1, *Theileria* sp. OT3 and *T. ovis* (Taylor *et al.*, 2007; Duh *et al.*, 2008).

In addition, *T. lestoquardi* have been recorded. *T. ovis* is transmitted by *H. punctata* and *R. bursa*. *Theileria* sp. OT1 has been detected in *I. ricinus*, *H. punctata* and *D. reticulatus*, while the vector of *Theileria* OT3 is unknown, but may also involve *H. punctata* (Ros-Garcia *et al.*, 2013). However, the distribution of these *Theileria* species is mostly unknown. Studies indicate that *T. ovis*, *Theileria* sp. OT1 and *Theileria* sp. OT3 is widely distributed (Nagore *et al.*, 2004; Ros-Garcia *et al.*, 2004; Altay *et al.*, 2005; Duh *et al.*, 2008; Giangaspero *et al.*, 2015). *T. lestoquardi* has recently been detected in Italy (Sparagano *et al.*, 2006), but the distribution in Europe is unknown.

Clinics

Theileriosis in Europe is rarely associated with clinical signs due to low pathogenicity. However, *T. lestoquardi*, causing malignant theileriosis) transmitted mainly by *Hyalomma* ticks, may cause severe infection in small ruminants with high mortalities (46-100%) (Taylor *et al.*, 2007; Woldehiwet, 2007). The acute form is more common, but subacute and chronic forms have been observed. In endemic areas, the infection is mild in young lambs and kids due to maternal immunity. In the acute form, several clinical signs may occur such as fever, inappetence, cessation of rumination, swelling of superficial lymph nodes, diarrhoea, jaundice and haemorrhages in submucosal and subcutaneous tissues. Affected animals may become emaciated and die. In chronic infections, intermittent fever, inappetence, emaciation anaemia and jaundice may occur (Taylor *et al.*, 2007). *Theileria* sp. OT3 may also be involved with clinical manifestations (Duh *et al.*, 2008). However, *T. ovis* causing benign theileriosis may cause only mild and clinically inapparent disease. *T. ovis* seems to be widely distributed in Europe and is mainly transmitted by *R. bursa* (Friedorff, 1997).

Diagnosis

Diagnosis is based on detection of meronts in blood smear, lymph node biopsies or lymph nodes or spleen smears on post-mortem (Taylor *et al.*, 2007). In addition, detection of *Theileria* in the blood should be performed by PCR (Esmaeilnejad *et al.*, 2014).

Treatment and control

For *T. lestoquardi*, a single injection of parvaquone or buparvaquone given at two occasions may be used. A single dose of halofuginone is also reported to be effective (Taylor *et al.*, 2007). Treatment and control of *T. ovis* is usually not required.

Tick control measures should be considered for controlling disease, in order to limit the distribution and expansion of the pathogenic species (see below).

OTHER TICK-BORNE OR TICK-BORNE RELATED INFECTIONS

Several virus in the genus *Flavivirus* could cause infection in sheep, such as louping-ill virus, Greek goat encephalitis virus, Spanish sheep encephalitis virus, Turkish sheep encephalitis virus and Western European encephalitis virus (Reid and Chianini, 2007). Clinical signs may vary from slight ataxia to sudden death. In affected animals, incoordination may progress to paralysis, convulsions, coma and death within 24-48 hours.

Other pathogens partly associated with ticks, such as *Coxiella burnetti*, *Francisella tularensis* and *Mycoplasma ovis* (formerly *Eperythrozoon ovis*) are also detected in Europe. However *M. ovis* is mainly transmitted by biting flies, such as stable flies (*Stomoxys calcitrans*) and keds (*Melophagus ovinus*). In addition, *C. burnetti* is mainly transmitted via the oropharyngeal route, and *F. tularensis* by direct contact or per os (Aitken, 2007; Taylor *et al.*, 2007). Ticks are therefore only occasionally involved in transmission of these pathogens. However, every tick species parasitizing a susceptible host in a known area of an epidemic of Q-fever, can for instance be expected to harbour and spread *C. burnetii* (Kazar, 1999).

TICK CONTROL

Vector control is important in order to control spread of tick-borne infections. Pasture management and habitat modification may reduce the density of ticks and thereafter the occurrence of tick-borne infections. These changes may destroy the tick's microhabitat or at least make the ticks vulnerable to macroclimate condition. The methods include drainage, controlled burning, herbicidal treatment (i.e. contamination of the natural environment), mechanical clearing of bushes, removal of leaf litter, and in some cases partial removal of the forest canopy (Soneneshine, 1993). Alteration of the habitat may also change the tick hosts availability. However, the tick abundance can only be reduced by these procedures for a short period, and several of these procedures have to be repeated periodically and are labour intensive. Sufficient habitat modification is not always feasible and farm animals are always at risk from ticks brought in from the surrounding areas, especially if other large animal species use the same pastures. In addition, migrating birds

may spread millions of ticks between geographical areas. Biological tick control is becoming an attractive approach to tick management. Biological control of tick infestations has been difficult because ticks have few natural enemies. Most predators of ticks are generalists with a limited potential for tick management. Studies so far have concentrated on bacteria, entomopathogenic fungi and nematodes (Samish *et al.*, 2004). However, the main challenge is to create a sustainable biological control of ticks in the natural habitat.

Vaccines against ticks are also an alternative option. However, only a vaccine against the one-host cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* has so far been developed (Willardsen, 2004). Control of ticks by vaccination has the advantages of being cost-effective, reducing environmental contamination and preventing the selection of drug-resistant ticks that may result from repeated acaricide applications.

The development of vaccines that target both ticks and pathogen transmission may provide a means of controlling tick-borne infections through immunization of the human and animal population at risk or by immunization of the mammalian reservoir to reduce pathogen transmission (de la Fuente *et al.*, 2006).

In the future, integrated tick control strategies should be implemented. These strategies must be based on host resistance to ticks and to the infections they transmit, strategic tick control on the actual pastures, cost/benefit analyses of the acaricidal applications and the availability of vaccines against ticks and tick-borne diseases (Jongejan and Uilenberg, 2004).

CONCLUDING COMMENTS

Tick-borne haemoparasites are widespread in Europe. An active surveillance for several of these pathogens is however lacking in order to identify the real distribution of these pathogens. At the moment, *A. phagocytophilum* infection in the north and *A. ovis* and *B. ovis* infection in the south are the most widespread tick-borne infections in small ruminants in Europe. In the future, other ticks and tick-borne pathogens may be established and more abundant in Europe.

REFERENCES

- Ahmed, J.S., Lou, J., Schnittger, L., Seitzer, U., Jongejan, F., Yin, H. (2006). Phylogenetic position of small ruminants infecting piroplasms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081, 498-504.

- Altay, K., Dumanli, N., Aktas, M. (2007). Molecular identification, genetic diversity and distribution of *Theileria* and *Babesia* species infecting small ruminants. *Veterinary Parasitology*, 147, 161-165.
- Aydin, M.F., Aktas, M., Dumanli, N. (2015). Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in ticks collected from sheep and goats in the black sea region of Turkey. *Parasitology Research*, 114, 65-69.
- Estrada-Pena, A., Bouattour, A., Camicas, J.L., Walker, A.R. (2004). *Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. A guide to identification of species*, University of Zaragoza, Spain, pp. 131.
- De la Fuente, J., Atkinson, M.W., Naranjo, V., Fernández de Mera, I.G., Mangold, A.J., Keating, K.A., Kocan, K.M. (2007). Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma ovis* strains, *Veterinary Microbiology*, 119, 375-381.
- Duh, D., Punda-Polic, V., Trilar, T., Avsic-Zupanc, T. (2008). Molecular detection of *Theileria* sp. in ticks and naturally infected sheep, *Veterinary Parasitology*, 151, 327-331.
- Foggie, A. (1952). Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 63, 1-15.
- Friedhoff, K.T. (1997). Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. *Parassitologia*, 39, 99-109.
- Giangaspero, A., Marangi, M., Ppainsi R, Paoletti, B., Wijnveld, M., Jongejan, F. (2015). *Theileria* sp. OT3 and other pathogens in sheep and ticks in Italy: Molecular characterization and phylogeny. *Ticks and tick-borne diseases*, 6, 75-83.
- Gray, J.S., Dautel, H., Estrada-Pena, A., Kahl, O., Lindgren, E. (2009). Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 12.
- Horta, S., Barreto, M.C., Pepe, A., Campos, J., Oliva, A. (2014). Highly sensitive method for diagnosis of subclinical *B. ovis* infection. *Tick and tick-borne diseases*, 5, 902-906.
- Hurtado, A., Barandika, J.F., Oporto, B., Minguíjon, E., Povedano, I., García-Pérez, A.L. (2015). Risks of suffering tick-borne diseases in sheep translocated to a tick infested area: A laboratory approach for the investigation of an outbreak. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6, 31-37.
- Jaensson, T.G., Jaenson, D.G., Eisen, L., Pertersson, E., Lindgren, E. (2012). Changes in the geographical distribution and abundance of the tick *Ixodes ricinus* during the last 30 years in Sweden, *Parasites and Vectors*, 5(1), 8.
- Kazar, J. (1999). Q fever – current concept. In: Raoult, D., Brouqui, P. (Eds.), *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium*. Elsevier, Paris, 304-319.
- Ladbury, G.A.F., Stuen, S., Thomas, R., Bown, K.J., Woldehiwet, Z., Granquist, E.G., Bergström, K., Birtles, R.J. (2008). Dynamic transmission of numerous *Anaplasma phagocytophilum* genotypes among lambs in an infected sheep flock in an area of anaplasmosis endemicity. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(5), 1686-1691.
- Mans, B.J., Pienaar, R., Latif, A.A. (2015). A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology, *International Journal for Parasitology: Parasites and wildlife*, 4, 104-118.
- McHardy, N., Woollon, R.M., Clampitt, R.B., James, J.A., Crawley, R.J. (1986). Efficacy, toxicity and metabolism of imidocarb dipropionate in the treatment of *Babesia ovis* infection in sheep. *Research in Veterinary Sciences*, 41, 14-20.

- Nagore, D., García-Sanmartín, J., García-Pérez, A.L., Juste, R.A., Hurtado, A. (2004). Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in sheep population from Northern Spain. *International Journal for Parasitology*, 34, 1059-1069.
- Reid, H.W., Chianini, F. (2007). Louping ill. In: Aitken, I.D. (Ed.), *Diseases of sheep*, 4th ed. Blackwell publishing, Oxford, 347-355.
- Renneker, S., Abdo, J., Salih, D.E.A., Karagenc, T., Bilgic, H., Torina, A., Oliva, A.G., Campos, J., Kullmann, B., Ahmed, J., Seitzer, U. (2013). Can *Anaplasma ovis* in small ruminants be neglected any longer? *Transboundary and emerging diseases*, 60(suppl. 2), 105-112.
- Ros-García, A., Barandika, J.F., García-Pérez, A.L., Juste, R.A., Hurtado, A. (2013). Assessment of exposure to piroplasms in sheep grazing in communal mountain pastures by using a multiplex DNA bead-based suspension array. *Parasites and Vectors*, 6, 277.
- Schnittger, L., Yin, H., Gubbels, M.J., Beyer, D., Niemann, S., Jongejan, F., Ahmed, J.S. (2003). Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites, *Parasitological Research*, 91, 398-406.
- Stuen, S. (2003). *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection in sheep and wild ruminants in Norway. A study on clinical manifestation, distribution and persistence, Thesis Dr. Philosophiae, 132 pp.
- Stuen, S., Longbottom, D. (2010). Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice*, 27, 213-233.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L. (2007). *Veterinary parasitology*, 3th. ed. Blackwell Publishing, Oxford, 874 pp.
- Uilenberg, G. (1999). Importance of ticks and tick-borne diseases of domestic ruminants in southern Europe, *Parassitologia*, 41(suppl. 1), 107-109.
- Uilenberg, G. (2006). Babesia- a historical overview. *Veterinary Parasitology*, 138, 3-10.
- Woldehiwet, Z. (2007). Tick-borne diseases. In: Aitken, I.D. (Ed.), *Diseases of sheep*, 4th ed. Blackwell publishing, Oxford, 347-355.
- Yeruham, I., Hadani, A., Galker, F. (1998). Some epizootiological and clinical aspects of ovine babesiosis caused by *Babesia ovis* – a review, *Veterinary Parasitology*, 74, 153-163.

SÁNCHEZ MEJÍAS, J. M.

Veterinario Clínico. Junta Directiva SEOC

Aunque la mayoría de los rebaños de ovino y gran parte de los rebaños de caprino, se explotan en un sistema extensivo o semiextensivo, siempre se van a realizar algunas prácticas de manejo que pueden afectar al bienestar de los animales que integran dicho rebaño.

Además de los que se relacionan con más énfasis a continuación; debemos de tener en cuenta las recomendaciones de Comité permanente del Convenio Europeo sobre la protección de los animales (6 de Noviembre de 1.992).

En dichas recomendaciones, se trata también de las prácticas de esquila, tratamiento de las miasis, manejos en salas de ordeño, Etc.

Según la normativa actual, todos los ganaderos deben de realizar un curso de bienestar animal en la explotación, así como otro de bienestar animal en el transporte (en el caso de movimientos de animales)

RABOTEO EN OVINO

Como norma general, se considera que el raboteo en los ovinos es beneficioso para el animal, ya que mejora su bienestar a lo largo de su vida y además, mejora el manejo y las manipulaciones del ganado.

Tal es así que incluso en la ganadería ecológica está autorizado esta amputación, siempre que se solicite y explicando los motivos por los cuales se realiza dicha práctica, que vienen a ser los siguientes:

- Los ovinos criados **en ganadería ecológica** de forma extensiva, tras el parto, acumulan restos de sangre y placenta alrededor de toda la longitud del rabo que no pueden ser fácilmente retirados por los

operarios de la explotación ganadera debido al carácter extensivo de la misma; estos residuos, sobretodo en épocas de primavera y estivales, atraen en todos los casos diversas especies de dípteros causantes de **miasis cutáneas** en la **zona del periné y vulva**. Esta es una enfermedad parasitaria que merma la salud del animal de forma considerable, pudiendo ocasionar la muerte o cuando menos el deterioro del animal, así como la posible pérdida de la cría por agenesia de leche asociada al proceso inflamatorio y parasitario. Por lo tanto, en los animales que se amputa el rabo de forma parcial esta posibilidad es mucho más remota, ya que al permanecer intactas las 2-3 primeras vertebrales caudales el animal más fácilmente puede abatir a los insectos y despojarse de las secundinas, **mejorando la salud y bienestar de las ovejas**.

- Es preciso añadir que durante los primeros días de vida de los corderos, las medidas higiénicas en el ambiente donde nacen son imprescindibles. Esto incluye la piel, mucosas y lana de sus madres, y pasa por el inmediato abandono de los restos del parto en el lugar del mismo por las reproductoras. Las madres con la amputación parcial del rabo, acumulan menos restos de los tejidos propios del parto y los transportan menos tiempo y espacio, con lo que **la higiene de la explotación y la posibilidad de atraer a predadores** en este aspecto mejora, además de incrementarse la higiene de las crías que durante los primeros días de lactancia se van a ensuciar menos con dichos restos.
- Durante las épocas de más calor como son la primavera y el verano la miasis cutánea es la patología más frecuente en el ganado extensivo de esta explotación, fechas en las que el ganado se maneja menos en las instalaciones cubiertas debido al **estrés por golpe de calor** típico de estos periodos y en las cuales se va a realizar la concentración de la paridera anual, para aprovechar los pastos de acuerdo a las técnicas de producción ecológicas. La zona más frecuente donde aparece la miasis cutánea en los ovinos es el prepucio en el caso de los machos y el periné-vulva en el caso de las hembras, además de cualquier solución de continuidad en la piel. Durante esta época el pastor va a revisar el ganado detectando los posibles animales parasitados.
- Las ovejas parasitadas con rabos completos serán más **difíciles** de detectar, ya que no permiten su observación plena, dándose también la circunstancia que en la tarea de esquilado **los rabos completos tienen una alta frecuencia de lesiones debido a la dificultad de su deslane**. Esto, sin duda, atrae a los insectos. Para ello sería necesario el manejo en instalaciones de forma periódica lo cual es inviable

en esta explotación extensiva y ecológica donde el ganado pasta en libertad el mayor tiempo posible para adaptarse a los Reglamentos CE 889/2008 y 837/2007. Por lo tanto su **salud y bienestar puede verse afectada**.

El descole parcial, en caso de ser autorizado, se realizará sólo en las hembras y machos que se destinen a reproductores. Esta operación se hará reduciendo al máximo el sufrimiento de los animales usando una anestesia/analgesia general mediante xilacina y analgesia local con Lidocaína o Mepivacaína y bajo **estricta actuación veterinaria**.

De acuerdo a la normativa vigente en ganadería ecológica se guardarán y presentarán los registros de dicha actuación para su presentación ante el organismo de control o cualquier autoridad que así lo requiriera.

La amputación parcial del rabo en corderas de reposición se realizará siempre en el periodo que comprende los **7 a 10 días de edad**.

Esta práctica se realiza solo en los animales que se destinan para futuros reproductores, y en muchos lugares, se realiza en los días posteriores al nacimiento, ya que de esa manera se escogen las hijas de madres señaladas como buenas o de partos mejores. Además y ya que estamos en un comercio global, siempre que se venden corderos vivos para los países árabes, tienen que ir sin ninguna amputación.

DESCORNE EN CAPRINOS

Es una manipulación que en las razas con cuernos se realiza cada vez con mayor frecuencia, ya que permite un manejo mucho más tranquilo del rebaño, al disminuir la agresividad de los ejemplares dominantes y mejora el bienestar del rebaño en general y los individuos dominados en especial.

Tan ilustrativo es el caso, que en rebaños en los que se comienza a realizar esta práctica, muchas veces es necesario mantener apartados en lotes distintos los animales mayores con cuernos, de los que ya se le ha realizado la práctica del descornado.

Esta manipulación, se suele realizar en animales muy jóvenes, mediante tenazas o cauterio que necrosan el botón de crecimiento del cuerno.

CORTE DE PEZUÑAS

En ganaderías de ciclo intensivo, en el que el desgaste de la pezuña es menor que su crecimiento, se hace necesario, el realizar esta práctica

de manera rutinaria en los animales que van teniendo un crecimiento excesivo del casco, o de forma protocolizada en el tiempo a casi todo el rebaño.

El efecto sobre el bienestar del animal con esta práctica, no tiene ninguna duda, ya que en caso contrario, provocaría una deformación de las pezuñas, con la consiguiente alteración en la motilidad del animal.

ESQUILEO

Al menos se debe de realizar una vez al año, siempre en la época de clima más templado, la manipulación de los animales debe hacerse con el cuidado necesario, para evitar cortes, golpes y en el caso de que se realice con los animales sujetos, solo se tendrán el tiempo justo para realizar dicho esquileo.

Teniendo en cuenta el clima seco y caluroso de la mayoría de la zona mediterránea donde existe ganadería ovina, dicha práctica es totalmente necesaria para mejorar el bienestar de los animales.

BIBLIOGRAFÍA

- COE. (1976). Convenio Europeo de Protección de los Animales en Explotaciones Ganaderas (CEPAEG), basado en el Convenio Europeo TS n°: 087. Estrasburgo.
- COE. (1992). Recomendación Relativa al ganado Ovino y Caprino Adoptada por el Comité Permanente en su 25 reunión. Estrasburgo.
- UE. (2007). Reglamento (CE) n° 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n° 2092/91 . DO L 189/1 de 20.7.2007, p. 1
- UE. (2008). Reglamento (CE) n°889/2008 de la Comisión de 5 de septiembre de 2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control. DO L 250/1 de 18.09.2008, p. 1

ASPECTOS PRÁCTICOS DE MANEJO EN PEQUEÑOS RUMIANTES QUE AFECTAN AL BIENESTAR ANIMAL: NORMATIVA LEGISLATIVA BIENESTAR EN PEQUEÑOS RUMIANTES

PERIS PALAU, B.

DVM, PhD.

Cons. Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural. Generalitat Valenciana.

La primera iniciativa legislativa que intenta regular el bienestar en los animales de granja procede del Consejo de Europa a través del **Convenio Europeo de Protección de los Animales en Explotaciones Ganaderas (CEPAEG)**, basado en el Convenio Europeo TS n°: 087 que fue firmado en Estrasburgo el 10 de marzo de 1976 y que entró en vigor el 10 de septiembre de 1978.

Este tratado supone el primer acercamiento a las directrices del bienestar animal. Consta de tres capítulos diferenciados. El primero de ellos relativo a principios generales de observancia de las condiciones de alojamientos, alimentación, agua y cuidados de acuerdo con las necesidades de la especie. Adecuada libertad condiciones ambientales. En el segundo se crea el Comité Permanente, que se encargará de elaborar y adoptar las recomendaciones aplicables a las distintas especies de animales de granja.

Este organismo fue creado el 5 de mayo de 1949, con sede en Estrasburgo. Como única organización paneuropea compuesta por 47 estados, los 27 de la UE más el resto, excepto Bielorrusia, lo que incluye a Rusia, Turquía y Ucrania.

España se adhiere el 24 de noviembre de 1977, y encuentra en el Consejo de Europa un espacio jurídico con garantías mínimas compartidas, sin líneas divisorias, en tres pilares: la defensa de los derechos humanos, la democracia pluralista y la primacía del derecho, y ello incluye la lucha contra la discriminación de las minorías, la xenofobia, el crimen organizado y el terrorismo.

El Estado español, ocho años después de su entrada aprobó y ratificó el día 8 de noviembre de 1985 mediante el Instrumento de Ratificación del Convenio Europeo de protección de los animales en explotaciones ganaderas, hecho en Estrasburgo el 10 de marzo de 1976 y todo cuanto en él se dispone, prometiendo cumplirlo, observarlo y hacer que se cumpla y observe puntualmente en todas sus partes, a cuyo fin, para su mayor validación y firmeza.

España además ha ratificado hasta la fecha 122 convenios europeos mientras que otros 79 no han sido firmados ni ratificados

Por su parte, la Unión Europea, como consecuencia de que todos los Estados miembros habían ratificado el citado (CEPAEG), procedió a su aprobación y a materializarlo en el instrumento de aprobación correspondiente. Así, el 19 de julio de 1978 mediante la Decisión del Consejo de 19 de junio de 1978 relativa a la celebración de la **Ratificación de la UE mediante la Decisión del Consejo de 19 de junio de 1978 relativa a la celebración del Convenio Europeo sobre protección de los animales en las ganaderías (78 /923 /CEE)**. En su preámbulo justifica que la protección de los animales no constituye en sí uno de los objetivos de la Comunidad pero que, no obstante, las legislaciones nacionales actualmente vigentes en el ámbito de la protección de los animales en las ganaderías presentan disparidades que pueden crear condiciones de competencia desiguales y tener, por esta razón, una incidencia directa sobre el funcionamiento del mercado común.

Se creará, en el año siguiente a la fecha de entrada en vigor del presente Convenio, un Comité permanente. El Comité permanente se encargará de elaborar y adoptar recomendaciones a las partes contratantes que contengan disposiciones detalladas para la aplicación de los principios enunciados en el Título I del presente Convenio; tales disposiciones deberán basarse en los conocimientos científicos relativos a las diferentes especies

Posteriormente, años más tarde el propio Parlamento Europeo en su Resolución de 20 de febrero de 1987, sobre la política relativa al bienestar de los animales de cría, instó a la Comisión a presentar propuestas de normativas comunitarias que abarcarán los aspectos generales de la cría de animales en explotaciones ganaderas.

En este sentido la declaración número 24, aneja al Acta final del Tratado de la Unión Europea, invitaba a las instituciones europeas y a los Estados miembros a tener plenamente en cuenta, al elaborar y aplicar la legislación comunitaria, especialmente en el ámbito de la política agraria común, las exigencias de bienestar de los animales.

Estas intenciones quedaron plasmadas en **la Directiva 98/58/CE del Consejo de 20 de julio** de 1998 relativa a la protección de los animales en las explotaciones ganaderas

De esta forma, se pretendía amparar bajo el paraguas legislativo europeo la protección de los animales en las explotaciones ganaderas, así como el evitar distorsiones en el desarrollo de la producción y propiciar el buen funcionamiento de la organización del mercado de animales.

Debido a los presupuestos normativos inherentes al ámbito de normativa, era hace necesaria, por tanto, la incorporación al ordenamiento jurídico español de la Directiva 98/58/CE.

Por estos motivos, en su reunión del día 10 de marzo de 2000, el Consejo de Ministros aprobó el **Real Decreto 348/2000, de 10 de marzo**, por el que se incorpora al ordenamiento jurídico la Directiva 98/58/CE, relativa a la protección de los animales en las explotaciones ganaderas. Esté fue publicado en el BOE» núm. 61, de 11 de marzo de 2000.

Aunque se trata de una normativa de carácter general proporcionaba los argumentos legales para llevar a cabo actuaciones que atenten de una forma significativa en el bienestar de los animales. En este sentido, repasa y deja a criterio discrecional de los técnicos valoraciones que permitan adoptar medidas de carácter inmediato o no que restituyan las condiciones óptimas en lo que ser refiere a alojamientos e instalaciones, alimentación y agua, cuidado, manipulación, etc... Además de establecer las directrices de obligaciones por parte de los propios ganaderos y de los órganos competentes de las administraciones públicas encargadas de velar por el bienestar de los animales de granja.

Pero esta norma adolecía de los elementos normativos para emprender acciones coercitivo y disuasorio, incluyendo aspectos de carácter sancionador sobre los incumplimientos detectados en en el marco de esta legislación.

A su vez, la Unión Europea establecía de forma taxativa la obligación de regular el correspondiente régimen sancionador en caso de incumplimiento de la normativa de bienestar animal, pudiéndose citar a estos efectos el artículo 55 del Reglamento (CE) nº 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar animal. Un año más tarde se publica, el Reglamento (CE) nº 1/2005 del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y operaciones conexas, por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE

y 93/119/CE y el Reglamento (CE) nº 1255/1997, que deroga la Directiva 91/628/CEE del Consejo, de 19 de noviembre de 1991 en cuyo artículo 25 se establece la necesidad de que los Estados miembros adopten normas relativas a las sanciones aplicables en caso de infracción e incumplimiento.

Por estos motivos y debido a que no existía legislación en materia de sanciones aplicadas al ámbito del bienestar animal, el Ministerio de Agricultura llevó a cabo la iniciativa mediante la publicación de la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. Por su parte, algunas Comunidades Autónomas ya habían legislado a nivel autonómico las infracciones en materia de bienestar animal.

Tras realizar este recorrido por la normativa que afecta al bienestar animal en general y en particular a los pequeños rumiantes, hemos de finalizar indicando que en la actualidad y con carácter específico, únicamente nos podemos regir por la Recomendación Relativa al ganado Ovino y Caprino Adoptada por el Comité Permanente en su 25 reunión, (6 de noviembre de 1992) y debemos detenernos en los que a los Cambios del Fenotipo y/o del Genotipo se refiere recogido en el artículo 30 dónde indica que deberán prohibirse las operaciones que entrañen la pérdida de una cantidad significativa de tejido, o la modificación de la estructura ósea, o que pudieran causar un dolor o una angustia significativas, en particular: amputar el pene o las demás intervenciones del pene, descepar los cuernos, amputación por frío, eliminar pliegues de la piel, limar o afilar los dientes

Asimismo, podrán hacerse excepciones a las prohibiciones previstas anteriormente: las operaciones realizadas exclusivamente con fines de medicina veterinaria, para atenuar o prevenir el dolor o el sufrimiento;

Para las operaciones siguientes, que podrán realizarse según las condiciones indicadas en los siguientes apartados: i) corte del rabo por métodos quirúrgicos o con tenazas hemostáticas, siempre que se deje una longitud de cola suficiente para tapar el ano en los machos y el ano y la vulva en las hembras; ii) castrar con métodos químicos o con tenazas hemostáticas; iii) descornar; iv) realizar la vasectomía; v) marcar la oreja colocando una marca o tatuaje, implantar un dispositivo electrónico o marcar los cuernos.

Además, apuntaba que cuando la legislación nacional lo autorice, para la castración y el corte de la cola mediante la utilización de gomas, para el corte y la perforación de las orejas.

Asimismo indica que se debería evitar rabotear o castrar a los ovinos, en particular por medio de gomas. Si se debieran efectuar dichas operaciones, sólo deberían utilizarse métodos quirúrgicos con anestesia previa, o las tenazas hemostáticas. La operación de descornar sólo debería efectuarla un veterinario, y siempre con anestesia. La vasectomía y la cesárea o cualquier otra laparotomía, sólo deberá practicarlas un veterinario. Las demás operaciones durante las cuales el animal sentirá o se puede pensar de forma razonable que sentirá dolor, sólo se efectuarán con anestesia y únicamente las realizará un veterinario u otra persona cualificada conforme a la legislación nacional.

Por tanto, en conclusión la única normativa de carácter específico procede de las recomendaciones del Consejo de Europa adoptada en 1992, y la de carácter general a través del Real Decreto 348/2000, de 10 de marzo. Así pues, en la actualidad no existen consideraciones legales de carácter sectorial relativas al bienestar que condicionen o limiten aspectos relativos a la alimentación, los alojamientos y medio ambiente, salud por lesiones, enfermedades, y parcialmente prácticas de manejo, comportamiento y miedos como herramientas para evaluar las situaciones de protección animal. Si bien, debemos apuntar y destacar que recientemente la EFSA a través de grupos de expertos se hallan coordinando determinados trabajos que podrían desembocar en un futuro en fijar medidas a través de indicadores que permitieran actuaciones de carácter legal con objeto de determinar la situación de nuestros rebaños en una clasificación relativas del bienestar de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- COE. (1976). Convenio Europeo de Protección de los Animales en Explotaciones Ganaderas (CEPAEG), basado en el Convenio Europeo TS n°: 087. Estrasburgo.
- COE. (1992). Recomendación Relativa al ganado Ovino y Caprino Adoptada por el Comité Permanente en su 25 reunión. Estrasburgo.
- MAGRAMA. (1988). Instrumento de Ratificación del Convenio Europeo de protección de los animales en explotaciones ganaderas. BOE n°. 259, de 28.10.1988
- MAGRAMA. (2000). Real Decreto 348/2000, de 10 de marzo, por el que se incorpora al ordenamiento jurídico la Directiva 98/58/CE, relativa a la protección de los animales en las explotaciones ganaderas. BOE n°. 61, de 11.03.2000
- MAGRAMA. (2007). Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. BOE n°. 268, de 8.11.2007.
- UE. (1978). Decisión del Consejo (78/923/CEE) de 19 de junio de 1978 relativa a la celebración del Convenio Europeo sobre protección de los animales en las ganaderías. DO L 323/12 pp 47-54

- UE. (1998). Directiva 98/58/CE del Consejo de 20 de julio de 1998 relativa a la protección de los animales en las explotaciones ganaderas. DO L 221 8.8.98 pp 47-54
- UE. (2004). Reglamento (CE) nº 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar animal. DO L 191 de 28.5.2004, p. 1

STILLWELL, G.

Veterinary Faculty. Lisbon University. Portugal.

Increasingly consumers, farm assurance schemes and policy makers require that the welfare of animals on farm are assessed, to provide reassurances about the quality of life of animals kept for food, and to ensure cross-compliance with legislation. Animal welfare considers both the physical and mental well-being of animals, thus both these components of animal welfare need to be considered in welfare assessment. Welfare assessment schemes can assess the resources available to the animal on the farm, the ability of the farmer to manage the farm and the animals and the impact on welfare by looking at the animal itself. To date, two substantial EU projects (Welfare Quality and AWIN) have been developing animal-based welfare assessment protocols for pigs, cattle, chickens, turkeys, sheep, goats, horses, and donkeys to meet these needs. The Five Freedoms have been used for nearly 50 years to characterise requirements for animal welfare. This has been expanded in the Welfare Quality project to 4 Principles of Animal Welfare and 12 specific criteria that need to be assessed, and these same principles and criteria are used in the AWIN project. These address the developments in animal welfare thinking that animal welfare should be more than avoiding suffering and should aim to provide animals kept for human purposes with a good life. Thus welfare assessment requires that indicators should be used relating to each of the specific welfare criteria. A suitable welfare indicator must be valid – it measures something meaningful about the animals experience for each criterion; it must be reliable – it can be measured repeatedly in the same way and reaching the same conclusion; and it must be feasible or practical to record on commercial farms. As an example, in this talk we will outline the steps and measures that have been developed for use as indicators of welfare in sheep and goats.

We will also discuss ways to present farm animal welfare to producers and to relate it with performance. Finally we will present some data from the application of the welfare assessment protocol to intensively kept dairy goats in Portugal. This has shown a higher prevalence of welfare indicators in large and very large farms, compared with smaller family run ones.

ASPECTOS PRÁCTICOS DE MANEJO EN PEQUEÑOS RUMIANTES QUE AFECTAN AL BIENESTAR ANIMAL: PAIN MANAGEMENT TO IMPROVE RUMINANT FARM WELFARE

WINDSOR, P. A.; LOMAX, S. AND WHITE, P.

Faculty of Veterinary Science, University of Sydney,
PMB 3, Camden, NSW 2570, Australia.

ABSTRACT

Research on provision of farmer-applied pain management to improve the welfare of livestock during aversive husbandry interventions commenced following development of a spray-on topical anaesthetic (TA) formulation containing lignocaine and bupivacaine (Tri-Solfen®; Bayer Animal Health, Pymble, NSW) originally developed for the mulesing operation in Australia. In mulesing, breech skin is removed to create a <bare area> and TA applied peri-operatively, considerably improving welfare for >24hrs. TA has been adopted enthusiastically with >40 million Merinos now having received pain management, with many flocks continuing mulesing to reduce life-time risk of blowfly strike until 'wrinkle' phenotypes are removed genetically. We then investigated TA for surgical castration, tail-docking, disbudding, dehorning, ear-tagging and shearing wounds and concluded that practical pain management during surgical interventions should commence with inhibition of nociception as TA is far more efficacious than previously considered. Potentially, pre-operative cryo-anaesthesia in some procedures (eg ear tagging & notching) may be a less expensive alternative to TA's. For multi-modal pain management, ameliorating wound sensitisation by the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID's) is available and may have a particular role when cautery is used (eg tail docking and disbudding). Finally, modifying cognition by centrally-acting drugs such as low dose xylazine, is possible. Tri-Solfen® use by farmers has improved welfare attitudes on many farms and has potential application for global livestock industries.

Key words: welfare, castration, tail-docking, disbudding, ear-tagging

INTRODUCTION

The pain inflicted during aversive husbandry procedures in livestock systems, particularly those involving surgical procedures, is emerging as an important animal welfare issue in developed nations as consumers become more insistent that animal used for food and fiber live a 'good life'. Wound pain involves the three stages of nociception, sensitization, and central cognition. Following a noxious stimulus peripheral nociceptors, with enhancement by release of pain-sensitising chemical mediators, produce peripheral to central activation of sensory neurones via the peripheral nerves, then dorsal horn of the spinal cord, stimulating sensory areas of the brain resulting in central cognition of pain. Pain management of ruminants as performed routinely by veterinarians, has generally involved the use of sedatives to provide restraint, usually with compounds that have analgesic properties (e.g. xylazine), plus injection of local anaesthetics into the surgical site for nociception. More recently, NSAID's have been recruited to ameliorate sensitisation. This multimodal approach aims to capture the effectiveness of individual agents in optimal dosages, offering theoretical synergies in acute pain prevention, potentially minimising the side effects from each drug.

Management of the animal pain on farms is problematic for countries with large livestock populations and where veterinary services are unable to treat individual animals, such as the Australian sheep industry. Following an animal welfare activist-led campaign against the Australian wool due to industry acceptance of the mulesing operation in lambs to reduce the life-time risk of sheep blowfly strike from *Lucilia cuprina*, a farmer-applied spray-on topical anaesthesia (TA) formulation (Tri-Solfen®) was introduced in 2005 and registered in 2012 to manage the pain of mulesing. Over 40 million sheep have now been treated with TA as it clearly addresses pain and improves healing of mulesing wounds. Further, arguments that this should permit the continued use of the mulesing operation in flocks where it is considered necessary as a flystrike prevention strategy, appear to have been successful, at least in the extended period required until genetic alterations of Merino phenotypes (e.g. reduced wrinkle scores) can more effectively lessen the risk of flystrike attacks (Lomax *et al.*, 2009; Windsor and Lomax, 2013).

However TA has broader applications and our applied research has shown efficacy for use of the formulation in other livestock husbandry procedures involving surgical interventions. In particular, TA manages pain and improves healing of surgical castration and tail docking of lambs (Lomax *et al.*, 2011), castration of calves (Lomax and Windsor, 2012), disbudding and dehorning of calves (Espinoza *et al.*, 2013) and potentially disbudding of kids (Ajuda *et al.*, unpublished), plus general

on-farm wound treatments, particularly shearing cuts as these have also been used by activist-led attacks on the Australian wool sheep industry. An important finding from these studies has been confirmation of positive welfare outcomes following inhibition of wound nociception by the TA formulation when delivered peri-operatively, including for an extended period well beyond the duration of action of the TA's (Lomax *et al.*, 2013). Studies continue in developing a <best practice> multimodal approach to pain management, including consideration of practical approaches that ameliorate wound sensitisation (eg by various NSAID's) and modify cognition (eg by centrally-acting drugs such as low dose xylazine). Further, examination of the best 'age' for animals undergoing these procedures is of relevance, particularly as there has been an assumption they should be done in neonates or very young animals, despite this being often impractical in extensive production systems.

Progress in these developments suggests that a new paradigm has been emerging in addressing the welfare concerns of the aversive procedures used routinely in livestock husbandry for centuries. This paradigm is now well recognised in Australia and has commenced receiving international recognition (Grandin, 2014). In addition to ensuring international consumers of wool are made aware of the improved attitudes and practices on many Australian wool sheep farms as evidenced by widespread adoption of TA, efforts are needed to ensure the approach is successful in providing pain relief for other surgical husbandry procedures. As these advances have the potential for considerable benefit to the welfare of the global livestock industries, they are reviewed here.

MATERIALS AND METHODS

A review is conducted of studies on amelioration of pain during aversive husbandry procedures, particularly for routine procedures other than mulesing. Key components of animal welfare assessment include behaviour, physiology and health, and productivity (Fraser, 2003), with measures commonly reported in welfare trials including: the stress-responsive hormone, cortisol; the inflammatory marker, haptoglobin; abnormal behaviour following the procedure; and changes in animal weight (Fisher *et al.*, 2013). However none of these measures provides a direct assessment of pain. Further, their use in pain welfare research is problematic as physiological responses, inflammatory markers, behaviour displays and even bodyweight changes, may reflect the nature of injury that occurred and the pathophysiological process invoked, not necessarily differences in welfare outcomes or importantly, differences in pain or pain relief experienced by the animal. This is important

when comparing interventions involving open surgical wounds (e.g. surgical castration) and those inducing ischaemia (e.g. from a ring, clip or other banding device). Measures such as cortisol and haptoglobin distort findings in favor of non-surgical interventions (e.g. induced ischaemia) as there is less haemorrhage (lower cortisol) and less acute inflammation (less haptoglobin). Following surgery, both mediators are necessarily elevated as a physiological response to hasten healing, not as an indicator of pain or defective animal welfare. Comparisons between different techniques used for the various husbandry interventions should not rely on the use of physiological and inflammatory responses as these simply reflect differences in pathophysiological responses to the injury, not the pain or welfare outcome experienced by the animal.

To address these issues, methods of direct assessment of pain in lambs and calves involving both behavioural observations and neurophysiological testing were developed from modifications of clinical examination procedures commonly used by veterinarians in assessing patients with suspected neurological disorders. Behavioural observations, particularly demeanor, posture and locomotion, were recorded at pre-determined intervals using experienced observers 'blinded' to treatment, assisted by video recordings. Behaviours were compared on a numerical rating scale (NRS) of 0 through 3, being normal, mild, moderate and severe deviation from normal behaviour, with normal displays of demeanor, posture and locomotion in the particular environment having previously been established in the extended routine neurological examination (Lomax *et al.*, 2008). To determine the efficacy of TA on wounds, quantitative sensory testing (QST) was developed, providing measures of neurophysiological responses to stimulation of TA treated and untreated wounds. This used either von-Frey monofilament testing with an NRS score rating from 0 to 3 for local and central motor reflexes, following pain (75g) and light touch (10g) stimulation of wound and wound edges, or quantitation of QST using digital data derived from an electronic anaesthesiometer to invoke reflex responses (e.g. for castration) and an algometer (e.g. for dehorning) to determine tolerance of wound pressure responses. Digital QST enabled detection of primary and secondary hyperalgesia (hypersensitivity) of the wound and peri-wound surface respectively, plus the presence of allodynia (painful response to a stimulus that is normally not painful). A range of more traditional approaches to determining welfare outcomes have also been used, including changes in body weights, thermography of wounds, wound healing digital photography, time to 'mother up', physiological measures (e.g. cortisol), electrophysiological testing etc.

RESULTS

Castration and tail docking of lambs

TA (Tri-Solfen®) sprayed into the scrotum of lambs during surgical castration (ensuring coverage of spermatic cord remnants), accompanied by either surgical or hot-iron (HI) tail docking, was found to be efficacious in alleviating pain and improving wound healing (Lomax *et al.*, 2010). Trials comparing surgical castration with a 'placebo' treatment spray (no TA actives), rubber ring castration and tail docking, and 'sham' (handled but unmarked) control lambs, demonstrated significant reduction in pain-related behaviours (not significantly different in behaviour to sham-operation control lambs) and absence of primary hyperalgesia in the TA treated lambs following surgical castration. Hot-iron docking was associated with mild and transient secondary hyperalgesia and was abolished by the TA. It was concluded that TA alleviates wound pain and significantly reduces pain-related behaviours in lambs undergoing surgical castration plus surgical or hot-iron tail docking, without a negative effect on wound healing or a risk of systemic toxicity (Lomax *et al.*, 2010). There is a hierarchy of pain associated with different lamb marking methods, with rubber ring castration and tail docking being the most painful and ear tagging as the least painful intervention, with 'all treatments involving the use of tight rubber rings resulting in significant abnormal posture and 'active pain behaviour displays' (Grant, 2004). Rubber rings have been promulgated as a preferred method of castration in lambs, presumably because they are 'bloodless' and invoke a lower cortisol response than surgical castration. However animals treated with rubber rings display moderate to extreme pain (especially if the ring is applied to the tail) for several hours that is far less readily ameliorated than surgical castration (and tail docking) with TA, plus discomfort from inflammation proximal to the ring several weeks after application and increased risk of tetanus. Although surgical castration with TA is not bloodless, if done carefully, blood loss is minimal due to the presence of adrenalin and the gel in the TA product that assists rapid haemostasis (Lomax *et al.*, 2010).

Castration of calves

Studies conducted during routine castration in a calf cradle, involving Angus calves (135.8 ± 5.7 kg) aged 3-4 months allocated to 3 treatment groups (surgical castration, castration in combination with TA (Tri-Solfen®) sprayed into the scrotum and on the anterior fragment of the severed spermatic cord, and uncastrated controls), confirmed that calves treated with TA displayed significantly less pain-related behaviours after

castration than untreated calves (and did not differ from uncastrated controls), plus exhibited significantly greater pain thresholds in wounds and surrounding skin than untreated calves (Lomax and Windsor, 2013). Control and TA-treated calves had significantly lower mean response scores to von Frey stimulation than untreated calves (0.333, 0.978 and 4.289 respectively), confirming that TA results in rapid and prolonged pain alleviation in calves up to 24 h after castration. TA was suggested as a cost-effective, practical on-farm approach to pain alleviation, reducing the welfare impact of castration (Lomax and Windsor, 2013).

Disbudding and dehorning of calves and kids

A postoperative TA applied to the cauterised tissue area in neonatal calves and kids during hot iron disbudding has shown evidence of clinical efficacy, although trials are incomplete (unpublished observations). However, TA provided short-term wound anaesthesia in scoop-dehorned 2 month old dairy calves, demonstrating the potential to significantly reduce postoperative pain associated with scoop dehorning and disbudding (Espinoza *et al.*, 2013). However, TA's are only effective if they adhere to the dehorning wound. Even with adrenalin and gel in the TA product, scoop dehorning frequently results in considerable haemorrhage, leading to trials with a range of more viscous, foamy and powdered preparations of TA to enhance adherence of actives to exposed tissue are continuing (Espinoza, 2015). The use of TA becomes more challenging in older animals where horn removal results in development of deficits of the skull and openings to the frontal sinuses.

Ear tagging and notching

Cryoanaesthesia has been investigated in several species for the reduction of procedural pain (Fjordbakk and Haga, 2011) as during cooling of tissues, nerve conduction decrease linearly until approximately 10°C, where nerve conduction velocity, receptor sensitivity and neural transmission is virtually blocked. We conducted studies to evaluate the efficacy of a vapocoolant spray to provide local anaesthesia for calves during ear tagging and ear notching. Twenty Angus calves aged 4-16 weeks old were randomly allocated to two groups, one receiving vapocoolant spray (VS) and the other water spray (WS) during routine ear tagging and notching procedures. A three second spray was administered from 10 cm to both sides of the ear immediately prior to ear tagging and ear notching. A numerical rating scale (NRS) was used to score behavioural response to each procedure, with response categorised from 0 (no response) to 3 (severe).

Temperature and tissue validation studies indicated that a vapocoolant spray reduced tissue temperature to below nociceptive threshold levels (10°C) for 10-16 seconds. Univariate analysis indicated ear notching was more painful than ear tagging and when adjusted for the multivariate model, there was a significant effect of treatment with WS calves showing higher pain response scores than VS calves (odds ratio 4.08, 95% CI odds ratio 1.34 to 12.42, $P=0.011$). Ear notching resulted in greater pain response scores than ear tagging (odds ratio 23.19, 95% CI odds ratio 6.18 to 87.05, $P<0.001$). We can conclude that vapocoolant spray induced local anaesthesia and significantly reduced the pain response to ear tagging and ear notching in the calves in this study and that ear notching is more painful than ear tagging. We suggest that cryoanaesthesia may be an effective option for reducing the perioperative pain associated with these simple but commonly applied husbandry procedures (Lomax *et al.*, 2015).

DISCUSSION

TA offers the ruminant industries a more welfare-appropriate alternative to currently used lamb and marking methods used widely around the world, being surgery without analgesia or ischaemia-inducing rubber rings or banding devices. Farmer adoption of multimodal pain management approaches is difficult due to restrictions on the availability of drugs for widespread use. However, the positive welfare effects of inhibiting wound nociception by spray-on TA by farmers has shown to be safe and practical. Inclusion of a farmer-applied NSAID to ameliorate wound sensitisation is considered a logical additional strategy, with topical approaches to delivery of meloxicam having been developed (Small *et al.*, 2014). However in some trials, the addition of NSAID's to a regimen using TA, has shown marginal and even nil improvements in welfare outcomes (Espinoza *et al.*, 2015). The administration by farmers of centrally-acting drugs such as low dose xylazine to modify cognition, is very challenging; this would require greater veterinary supervision than is likely to be achievable in the Australian extensive livestock industries. As farmer-applied spray-on TA (Tri-Solfen®) for mulesing has achieved widespread adoption in Australia with over 7million lambs being treated annually, a rapid change in attitude by farmers to livestock welfare is achievable. If aversive husbandry procedures as used commonly to facilitate management of farmed livestock populations are to continue, then the pain inflicted on animals during these procedures should be ameliorated.

Farmer-applied TA is a new paradigm for addressing the welfare concerns of aversive procedures used routinely in livestock husbandry. There is

a rapidly emerging interest by numerous Australia livestock producers and many of their veterinary advisors, in the use of TA product(s) for improved animal welfare during husbandry procedures other than mulesing. The duties of veterinarians in provision of therapeutics to food animals is a balance between different regulatory acts, with many of the opinion that the ‘duty of care’ to relieve suffering of animals should prevail and that the right to prescribe unregistered TA products ‘off-label’ is an important expectation of veterinarians. However, it would be far preferable to have Tri-Solfen® registered as soon as possible for use in sheep for castration and cattle for dehorning and castration. It is suggested that not only do international consumers of wool need to be made aware of the improved attitudes and practice on many Australian wool sheep farms, but these advances may be of benefit to the welfare of numerous global livestock populations for a range of painful practices.

CONCLUSION

Progression of research on pain management and registration of TA products for use in sheep, cattle and presumably goats for surgical husbandry procedures other than mulesing is important, as this will advance animal welfare in Australia and potentially beyond, and diminish the risk to the ruminant industries of activist-led campaigns against painful interventions performed routinely in livestock husbandry. The Australian ‘TA revolution’ empowers farmers to take control of managing pain, reducing the suffering experienced by their animals undergoing aversive husbandry procedures. Importantly, it is an important market-risk management intervention that could be routinely adopted in livestock husbandry throughout the world.

ACKNOWLEDGEMENTS

Dr Meredith Sheil, Crystal Espinoza, Dominique McCarthy and numerous undergraduate students contributed to these studies, funded mostly by ARC, AWI and MLA in collaboration with project linkage partners Bayer Animal Health Australia and Animal Ethics Pty Ltd.

REFERENCES

Espinoza, C., Lomax, S., Windsor, P.A. (2013). Topical anaesthesia provides pain management for dehorning of calves. *J. Dairy Sci.*, 96,2894-2902.

- Espinoza, C., McCarthy, D., White, P., Windsor, P.A., Lomax, S. (2015). Evaluating the efficacy of a topical anaesthetic formulation and ketoprofen, alone and in combination, on the pain sensitivity of dehorning wounds in Holstein-Friesian calves. *An. Prod. Sci.* In press.
- Fischer, A.D., Giraudo, A., Martin, P.A.J., Paton, M.W. (2013). The use of quantitative risk assessment to assess lifetime welfare outcomes for breech strike and mulesing management options in Merino sheep. *Animal Welfare*, 22, 267-275.
- Fjordbakk, C.T., Haga, H.A. (2011). Effect of topical vapocoolant spray on response to arthrocentesis and intravenous catheterization in unsedated horses. *Am. J. Vet. Res.*, 72, 746-750.
- Fraser, D. (2003). Assessing animal welfare at the farm and group level: the interplay of science and values. *Animal Welfare*, 12, 433-443.
- Grandin, T. (2014). Animal welfare and society concerns finding the missing link. *Meat Science*, 98, 461-469.
- Grant, C. (2004). Behavioural responses of lambs to common painful husbandry procedures. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 87, 255-273.
- Lomax, S., Shiel, M., Windsor, P.A. (2008). Impact of topical anaesthesia on pain alleviation and wound healing in lambs following mulesing. *Aust. Vet. J.*, 86, 159-169.
- Lomax, S., Sheil, M., Windsor, P.A. (2009). Use of local anaesthesia for pain management during husbandry procedures in Australian sheep flocks. *Small Rum. Res.*, 86, 56-58.
- Lomax, S., Dickson, H., Sheil, M., Windsor, P.A. (2010). Topical anaesthesia alleviates the pain of castration and tail docking in lambs. *Aust. Vet. J.*, 88, 67-74.
- Lomax, S., Sheil, M., Windsor, P.A. (2013). Duration of action of a topical anaesthetic formulation for pain management of mulesing in sheep. *Aust. Vet. J.*, 91, 160-167.
- Lomax, S., Windsor, P.A. (2013). Topical anaesthesia mitigates the pain of castration in beef calves. *J. Animal Sc.*, 91, 1-8.
- Lomax, S., Witenden, E., Windsor, P., White, P. (2015) Effect of topical vapocoolant spray on perioperative pain response to ear tagging and ear notching of unweaned calves. *Vet. Anaesth. Analg.* In press
- Paull, D.R., Lee, C., Colditz, I.G., Atkinson, S.J., Fischer, A.D. (2007). The effect of topical anaesthetic formulation, systemic flunixin and carprofen, singly or in combination, on cortisol and behavioural responses of Merino lambs to mulesing. *Aust. Vet. J.*, 85, 98-106.
- Small, A.H., Belson, S., Holm, M., Colditz, I.G. (2014) Efficacy of a buccal meloxicam formulation for pain relief in Merino lambs undergoing knife castration and tail docking in a randomised field trial. *Aust. Vet. J.*, 92,
- Windsor, P.A., Lomax, S. (2013). Addressing welfare concerns regarding control of cutaneous myiasis in Australia. *Small Rum. Res.*, 110, 165-169.

¿QUÉ APORTAN LOS ANÁLISIS CLÍNICOS A LA HORA DE EVALUAR EL ESTADO DE SALUD Y PRODUCCIÓN DE UN REBAÑO? LA VALIDEZ DE LOS PERFILES METABÓLICOS

CASTILLO, C.

Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria de Lugo,
Universidad de Santiago de Compostela.
cristina.castillo@usc.es

RESUMEN

Las *enfermedades de la producción* se establecen cuando hay un intenso desajuste entre lo que se le ofrece al animal (en forma de alimentación) y lo que se le pide (en forma de producto final: leche/carne/crías). En estas situaciones la solución pasa por evaluar la ración que reciben los animales, cómo están las instalaciones, en qué momento fisiológico están las hembras o cómo ha sido el programa sanitario...pero también por la evaluación de su estado de salud. A esta información sólo se puede acceder mediante la realización de análisis de sangre, midiendo una serie de parámetros concretos e interpretándolos en el contexto en el que se encuentran los animales, dentro de lo que se conoce como *bioquímica clínica*. El objetivo de la presente ponencia es abordar qué tipo de información obtenemos mediante la medición de los diversos perfiles, con especial énfasis en los perfiles metabólicos; cuándo es necesario realizarlo y no menos importante, qué consideraciones hay que tener para que la sangre recogida por venopunción pueda ser fiable para un posterior análisis e interpretación.

Palabras clave: Perfiles metabólicos, laboratorio, producción.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día la tecnificación de los sistemas de producción y la mejora genética de los rumiantes en busca de mayor productividad ha favorecido la aparición de lo que llamamos *enfermedades asociadas a*

la producción o enfermedades metabólicas y que afectan a la salud de los animales generando importantes pérdidas económicas en el sector ganadero.

Ante una situación así, es evidente que la solución pasa por evaluar la ración que reciben los animales, cómo están las instalaciones, en qué momento fisiológico están los animales o cómo ha sido el programa sanitario... pero también por la evaluación de su estado de salud, que no siempre queda reflejado en su índice de condición corporal o la cantidad de alimento que consume (Castillo *et al.*, 1999; 2001a).

A esta información sólo se puede acceder mediante la realización de análisis de sangre, midiendo una serie de parámetros concretos e interpretándolos en el contexto en el que se encuentran los animales, dentro de lo que se conoce como *bioquímica clínica*.

Pero antes hagamos un poco de historia...

Todo comenzó a principios de los años 70 cuando el Dr. Jack M. Payne, Director del Institute for Research on Animal Diseases de Compton (UK) señaló que el análisis de una serie de parámetros sanguíneos como hemoglobina, hematocrito, ciertos electrolitos y minerales, metabolitos o enzimas podían servir de indicadores del estado mineral, energético o proteico del animal (Payne, 1971).

*A raíz de ahí se diseñaron los **perfiles metabólicos Compton** como indicadores de la susceptibilidad de un rebaño al padecimiento de una patología asociada a la producción. Se basa en un estudio estadístico en el que podemos apreciar si los valores obtenidos para un animal o un grupo se incluyen o no dentro de lo que se considera rangos de referencia.*

En un principio los perfiles metabólicos o *estudios nutricionales* fueron usados, para detectar alteraciones metabólicas subclínicas debidas a deficiencias en la alimentación, pero luego demostraron ser adecuados para evaluar los efectos de los diferentes tratamientos nutricionales y del estado de bienestar animal. Estos estudios bioquímicos pueden resultar muy útiles cuando existe disminución en los índices productivos y/o reproductivos y estos no se asocian con signos clínicos de enfermedades infecciosas.

Obviamente, la determinación de los perfiles metabólicos no reemplaza al examen clínico detallado, al análisis de las prácticas de cría y al de la ración, pero en ocasiones resulta útil en aquellas situaciones a gran escala en las que diversos problemas subclínicos pueden tener en poco

tiempo desastrosas consecuencias económicas (Castillo y Hernández, 2013).

El objetivo de la presente ponencia es abordar qué tipo de información obtenemos mediante la medición de los diversos perfiles; cuándo es necesario realizarlo y no menos importante, qué consideraciones hay que tener para que la sangre recogida por venopunción pueda ser fiable para su posterior análisis e interpretación.

¿CUÁNDO ES NECESARIO REALIZAR ANÁLISIS LABORATORIALES EN LAS EXPLOTACIONES DE GANADO OVINO Y CAPRINO?

Como hemos dicho, las *enfermedades de la producción* se establecen cuando hay un intenso desajuste entre lo que se le ofrece al animal (en forma de alimentación) y lo que se le pide (en forma de producto final: leche/carne/crías) teniendo como escenario el metabolismo. En lo que llamamos *medio interno* tiene lugar una intensa lucha por los nutrientes destinados al mantenimiento del ser vivo y los destinados a la producción. Esta *lucha* está dirigida por los complejos sistemas endocrinos que regulan todas y cada una de las funciones corporales así como de los nutrientes que precisa. Es pues el medio interno el campo de batalla y la sangre su testigo. Será a ella a quien recurramos para que nos informe de lo que pasa dentro del organismo...

Hay situaciones clave que, independientemente de la especie animal, alteran el metabolismo en animales sometidos a un régimen productivo (Sargison y Scott, 2010):

1. *La introducción de una nueva ración o elemento en la misma, así como suplementos o aditivos.*

Aquí hay que considerar si la ración está o no ajustada a los requerimientos metabólicos de los individuos. En caso de introducir un elemento nuevo o un suplemento es interesante conocer si es bien metabolizado, si interfiere con otros nutrientes o si afecta a su salud.

Una dieta desequilibrada (por exceso o por defecto) puede conducir a deficiencias nutricionales (raquitismo) o sobrepeso; un aditivo concreto puede interferir en la fermentación ruminal causando acidosis sistémica o dañar al hígado, alterando su función...

2. *El final de la gestación y el inicio de la lactación. Lo que se conoce como fase de transición.*

Está claro que el final de la preñez y el inicio de la lactación supone al organismo una serie de cambios drásticos en lo que respecta a los requerimientos metabólicos. Pasamos de nutrir una o dos crías y preparar a la ubre para la síntesis de leche a directamente dirigir todo el metabolismo hacia la producción láctea. Si el organismo está preparado (gracias a un buen manejo nutricional entre otras cosas) el animal lo supera pero puede ocurrir que el organismo no tenga suficientes recursos, especialmente en lo que respecta a la energía, entrando en lo que conocemos como **balance energético negativo**.

Precisamente asociada a la fase de lactación encontramos la mayor parte de las patologías metabólicas en rumiantes: desequilibrios en los valores sanguíneos de calcio y fósforo (paresia puerperal) o magnesio (tetania hipomagnesémica); desajustes en el balance o perfil energético (toxemia) y que se traducen en trastornos reproductivos; desajustes en la fermentación ruminal (acidosis) al incorporarse hacia una dieta rica en carbohidratos fácilmente degradables...

3. *Cambio en el sistema de explotación: el paso de intensivo a ecológico.*

Los análisis sanguíneos se han utilizado básicamente para monitorizar el estado de salud en los sistemas de producción intensiva. Los cambios hacia nuevos modelos de explotación llevan también asociados cambios nutricionales y de manejo que no siempre repercuten en la producción en un primer momento. El ejemplo más claro lo tenemos en el nuevo modelo de ganadería ecológica u orgánica, donde no siempre se cubren las necesidades fisiológicas de los animales a través de la ración, siendo nido de patologías metabólicas subclínicas atribuibles sobre todo a la carencia de minerales o la falta de energía.

Hipocalcemia, hipomagnesemia, acidosis, toxemia de la gestación, urolitiasis, ataxia enzootica... son procesos harto conocidos en las explotaciones ovinas y caprinas. No nos vamos a detener en ellas pues no es el objeto de esta ponencia, sino en ver cómo a través de los parámetros metabólicos podemos llegar al diagnóstico y lo que es más importante, adelantarnos a su presencia.

¿QUÉ PARÁMETROS PODEMOS ANALIZAR Y QUÉ NOS INDICAN?

La *bioquímica clínica* nada tiene que ver con la bioquímica que estudiamos en la carrera. Básicamente abarca el estudio de los componentes que integran los fluidos corporales (sobre todo plasma/suero sanguíneo, a veces orina, o líquidos contenidos en espacios corporales). Dada la naturaleza y variedad de los fluidos así como de los parámetros y técnicas

analíticas disponibles, la bioquímica clínica aporta en la actualidad información más útil y rápida sobre el estado de salud de un grupo que la hematología. No obstante hay que señalar también que no todos los parámetros bioquímicos valen para todas las situaciones clínicas que nos podamos encontrar, por lo que se hace necesario agruparlos en *paneles* concretos para poderlos contextualizar y no ir a ciegas. Así, podemos tener (Russell y Roussel, 2007; Smith, 2010):

1. **Panel general:** Nos aporta una información global acerca del estado de salud del animal así como una valoración de los problemas médicos más habituales. En la población de ovino y caprino, un panel general estaría formado por las determinaciones séricas de glucosa; nitrógeno ureico en suero (SUN en inglés); creatinina; las enzimas *aspartato-aminotransferasa* (AST); *gamma-glutamilttransferasa* (GGT); *fosfatasa alcalina* (FA) o *creatinkinasa* (CK); proteínas totales; albumina; globulinas; sodio; potasio; cloro; calcio y fósforo. Opcionalmente podría incluirse una gasometría (valoración de los valores de pH, pCO₂, bases en exceso y bicarbonato, y calcio ionizado).
2. **Panel muscular:** Detecta las lesiones sobre el músculo esquelético y cardíaco. Tiene interés cuando sospechamos de *enfermedad del músculo blanco*. Los parámetros que se recomiendan medir en suero serían CK, AST, SUN, creatinina (Braun *et al.*, 2010). Como opciones a mayores se indica la determinación de Se sanguíneo y la actividad de la enzima *glutación-peroxidasa* (GSH-Px, Castillo *et al.*, 2001b).
3. **Panel para hepatopatías:** Este panel ayuda a la detección de lesiones activas en el parénquima hepático, la afectación en el sistema biliar y la alteración en la función hepática. Con esta misión se determinan las actividades enzimáticas de AST, GGT, FA así como las concentraciones de SUN, creatinina, bilirrubina, glucosa, proteínas totales, albúmina y globulinas (Braun *et al.*, 2010).
4. **Panel renal:** nos proporciona una estimación cuantitativa del compromiso de la función renal, indicando la localización y naturaleza de la lesión del tracto urinario. Los valores en suero de SUN, creatinina, calcio, fósforo, magnesio, proteínas totales y albumina ayudan a este propósito (Braun *et al.*, 2010).
5. **Panel para procesos digestivos:** En rumiantes, este panel no sólo debería tenerse en cuenta cuando haya un trastorno a este nivel, sino cuando haya un cambio en la ración o la incorporación de un nuevo elemento a la misma. Ahí tenemos la determinación de los niveles de proteínas totales, la albúmina y globulinas, sodio, potasio, cloro y calcio. Puede ser de ayuda la realización de un análisis de

gasometría. Cuando sea posible, se recomienda la medición en suero de los niveles de D y L lactato (Castillo *et al.*, 2009)

6. Y por último, un buen **panel** o **perfil metabólico** pueden incluir la mayoría de los parámetros enumerados para el panel general, a lo que añadiríamos las determinaciones de magnesio, ácidos grasos no esterificados (AGNE, AGL o NEFA) y B-hidroxibutirato.

Los valores de BHB y NEFA proporcionan una indicación del equilibrio energético, mientras que SUN, creatinina, proteínas totales y albúmina son útiles para la valoración del estado proteico (Braun *et al.*, 2010).

En determinados contextos, y ya al margen de paneles concretos tenemos la medición de oligoelementos específicos como selenio (Se) o cobre (Cu) causantes de la *enfermedad del músculo blanco* y la *ataxia enzoótica*, respectivamente. En estos casos, más que medirse la concentración del oligoelemento en cuestión lo que se hace es medir en sangre la concentración de las enzimas de las que forman parte, como es *glutación peroxidasa* (GSH-Px) o *superóxido dismutasa* (SOD). Para otras patologías como es la deficiencia de cobalto (Co) recurriríamos a marcadores indirectos (perfil energético).

SIGNIFICADO DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS

Hasta aquí hemos presentado los principales parámetros con los que trabajamos cuando queremos saber si un rebaño está bien alimentado, preparado para afrontar la lactación, adaptado a un nuevo suplemento o a un nuevo modelo de explotación...pero ¿qué significan cada uno? ¿Qué información aportan más allá de si están altos o bajos respecto a unos valores de referencia?

Para poder acercarnos a ello, está bien agrupar dichos parámetros en función de su actividad fisiológica. Así tendremos varios grupos (Vap y Weiser, 2007; Smith, 2010):

1. *El equilibrio de líquidos y electrolitos en el organismo.*

Los cambios en el volumen plasmático suelen reflejarse en alteraciones de la concentración de **proteínas totales** en suero. Así en estados de *deshidratación* es habitual encontrarnos con un incremento en las concentraciones, si bien es cierto que se trata de un incremento relativo y relacionado con la propiedad oncótica de la albúmina.

La concentración de **sodio** sérico depende del equilibrio existente entre el volumen sanguíneo, el K y el propio ión. Las alteraciones

en el equilibrio hídrico son las responsables de los cambios en la natremia: así la *hiponatremia* nos dice que hay un exceso de agua intravascular mientras que la *hipernatremia* un déficit relativo de la misma, compatible con deshidratación.

La concentración de **potasio** en suero está condicionada por su equilibrio intra y extracelular así como por el equilibrio entre la ingesta y excreción. Por tanto podemos encontrar alteraciones en los valores de K (hiper o hipokalemias) asociadas a *trastornos del equilibrio ácido-base, diarreas, fallos renales o inanición*.

Un electrolito más desconocido es el **cloro**. Por lo general los cambios en sus valores van de la mano de los cambios en las de sodio; pero cuando estamos ante situaciones de *acidosis metabólica* podemos encontrarnos con grandes desajustes, como ocurre en la acidosis metabólica hipoclorémica que aparece en los trastornos digestivos en rumiantes.

2. *El equilibrio de macrominerales*

Nos referiremos, por sus concentraciones en suero, a los valores de calcio, fósforo y magnesio.

Para empezar los valores de **calcio** medidos en suero corresponden total de calcio circulando por la sangre. La realidad es que en ella este mineral se encuentra en tres formas: ionizado, formando complejos y ligado a proteínas. La forma ionizada (un 40-60% del total medido) es la fisiológicamente activa y la que reviste interés clínico. Esta fracción permanece estable a pesar de que los valores de calcio total suban o bajen; sin embargo los *cambios en el equilibrio ácido-base* producen cambios significativos (la alcalosis reduce el calcio ionizado y la acidosis lo aumenta). Por eso en situaciones de acidosis o alcalosis es esta la fracción a medir, y no tanto el calcio total (Castillo *et al.*, 1997). El problema es que requiere de métodos de medición más sofisticados que el calcio total, por lo que su medición es poco frecuente. La determinación de los niveles de calcio total son una herramienta imprescindible para monitorizar el estado de salud de la hembra al final del parto y el inicio de la lactación, en prevención de los cuadros de hipocalcemia o *paresia puerperal*. Junto con el fósforo son los minerales a testar en animales en crecimiento, en busca de situaciones de *raquitismo*.

El **fósforo** se encuentra en el hueso en estrecha relación con los niveles de calcio. Los desequilibrios entre calcio y fósforo, o la presencia de compuestos que se fijan a ellos en el intestino impidiendo

su absorción, causan graves *hipofosfatemias* que repercuten en el estado de salud de los animales causando *raquitismo* u *osteomalacia*.

Finalmente el **magnesio**, un mineral casi olvidado en los últimos años a la hora de evaluar el perfil mineral. Y sin embargo es de relevancia en rumiantes por dos razones: 1) son susceptibles a deficiencias agudas en este mineral y 2) sus valores en sangre van a estar estrechamente condicionados por su absorción en rumen, alterándose cuando en él haya condiciones que impidan su asimilación como es un pH ruminal elevado, altos niveles de K o de ácidos grasos insaturados, presentes en el forraje, conduciendo a severas hipomagnesemias características de la *tetania de la hierba* (Castillo *et al.*, 2015).

3. *Balance de microminerales.*

No nos hemos olvidado del papel que juegan por su importancia clínica elementos tales como el selenio, cobre, hierro, cinc, cobalto... Sus carencias e intoxicaciones están descritas ampliamente en la bibliografía y serían motivo de otra ponencia.

Sólo señalar que con frecuencia, aparte de la medición en sangre del micromineral concreto, la bioquímica clínica a través de los paneles descritos anteriormente, nos ayuda a determinar el grado de afectación funcional. Asimismo hay marcadores indirectos como las enzimas GSH-Px o SOD que complementan la información aportada por las concentraciones en sangre.

4. *La enzimología*

La enzimología clínica es la aplicación del conocimiento de las enzimas (proteínas especializadas en la catálisis de reacciones orgánicas) al diagnóstico de la enfermedad. Aunque son raras las enzimas exclusivas de un tejido, la alteración de la concentración sérica de un enzima determinada orienta sobre los territorios probablemente más afectados.

Cuando evaluamos enzimas, medimos sus actividades en sangre; éstas podrán estar *aumentadas* debida a un aumento en la permeabilidad celular por daño tisular, o *disminuidas* por enfermedades crónicas que originen disfunción celular.

Las enzimas usadas con más frecuencia hacen referencia a la función hepática (esto es GGT y AST) así como al daño muscular (CK, LDH). Hay otras enzimas como la SDH o la FA que bien por complicación de la técnica, bien por la amplitud de rangos no son utilizados con tanta frecuencia.

5. *El balance energético*

Aquí incluimos los parámetros más conocidos y registrados en la bibliografía. Lo comprende básicamente tres de ellos: la glucosa (cada vez más en desuso), los ácidos grasos libres o NEFA y el β -hidroxibutirato.

El *balance energético* se define como la diferencia entre el consumo de energía por parte del animal y la energía requerida para el mantenimiento y la producción (básicamente preñez/lactación).

Si el gasto de energía es mayor que el consumo, el balance energético es negativo y los animales ven mermada su condición corporal. Veremos entonces como los niveles de glucosa descienden aumentando los de NEFA y β -hidroxibutirato indicando que ante la falta de energía, visible a través de la glucemia, el organismo ha de recurrir a la movilización de las reservas corporales de grasa con el fin de seguir proporcionando energía (frecuentemente para la lactación). Con frecuencia, el hígado sobrecargado de actividad va a manifestar su resentimiento a través del aumento en las enzimas hepáticas.

6. *El balance proteico*

Para este bloque los parámetros de elección son urea (SUN) y creatinina. El primero no es más que un metabolito nitrogenado formado en el hígado como resultado del catabolismo proteico. En el caso de los rumiantes, este parámetro es utilizado frecuentemente para valorar el *estado de nutrición proteica*. Cuando sus valores superan el rango establecido, puede considerarse que la ración administrada está aportando un exceso de proteína degradable.

La creatinina es quien realmente nos informa sobre la funcionalidad del riñón, aumentando sus valores cuando ésta disminuye, como puede ocurrir en estados de *deshidrataciones*, *nefropatías* o *urolitiasis* por ejemplo.

7. *El equilibrio acido-base* (Castillo *et al.*, 2000).

Dejamos para el final un bloque de parámetros que requieren de un manejo y procesamiento diferentes a lo explicado hasta ahora. Su valor radica en que aporta información relativa a los cambios en la concentración de hidrogeniones en sangre así como los mecanismos compensatorios desarrollados.

Todos sabemos que la *acidemia* es debida al aumento en la concentración de hidrogeniones (H^+) causando descenso en el pH

sanguíneo; la *alcalemia* se refiere a la situación opuesta (descenso en la concentración de H⁺ y aumento del pH sanguíneo).

Cuando la acidemia se asocia a un descenso en los niveles de bicarbonato en sangre hablaremos de un trastorno metabólico denominado *acidosis metabólica* que será compensada por el organismo a mediante una alcalosis respiratoria (esto es disminuyendo los niveles de pCO₂) con el fin de mantener el pH dentro de sus rangos normales. Cuando la alcalemia se asocia con aumento en los valores de bicarbonato, estaremos ante un trastorno metabólico denominado *alcalosis metabólica*. En este caso el aparato respiratorio compensará este estado provocando un estado de acidosis respiratoria encaminado a aumentar los niveles de CO₂ en sangre, para volver al pH de la sangre a la normalidad (ver Tabla 1).

Tabla 1. Desequilibrios acido-básicos y respuestas compensatorias (Smith, 2010).

Trastorno	pH	[H ⁺]	Desequilibrio primario	Respuesta compensatoria
Acidosis metabólica	↓	↑	↓[CO ₃ H]	↓pCO ₂
Alcalosis metabólica	↑	↓	↑[CO ₃ H]	↑pCO ₂
Acidosis respiratoria	↓	↑	↑pCO ₂	↑[CO ₃ H]
Alcalosis respiratoria	↑	↓	↓pCO ₂	↓[CO ₃ H]

Las *acidosis metabólicas* las vamos a encontrar en *estados cetósicos, sobrecargas ruminales, toxemia gestacional, diarreas o torsiones abomasales*. Las alcalosis metabólicas aparecerán en situaciones de *hipokalemias, hipocloremias o retención de líquidos en abomaso*.

Dejamos para otra ocasión los desequilibrios respiratorios que ocasionan acidosis o alcalosis por no encontrarse dentro del espectro de esta ponencia.

Cuando estamos ante trastornos digestivos graves capaces de modificar el pH de la sangre, es necesario evaluar la causa y el pronóstico. Para ello hay una herramienta de gran utilidad dentro de este grupo y que se llama *ganancia aniónica* (anion gap).

Se trata de un cálculo que podemos realizar teniendo los datos de los principales electrolitos del organismo, y surge de la diferencia entre la suma de cationes y aniones en el organismo, de la siguiente manera:

$$AG = (Na + K) - (Cl + CO_3H)$$

Su valor oscila entre los 12 y 16 mmol/L y da idea de la presencia de aniones que no se miden habitualmente en el laboratorio (lactatos, sulfatos, cetonas, fosfatos...) y que pueden provocar el descenso en los valores de CO_3H al consumirlo (en su función tamponadora) o eliminarlo.

No es lo mismo consumir que perder bicarbonato...

Así, si estamos ante un cuadro de acidosis metabólica (por toxemia, acidosis ruminal...) la GA será superior al rango fisiológico causado por el agotamiento del anión bicarbonato.

Si estamos ante una enterotoxemia o una diarrea, habrá pérdida directa del ión CO_3H -, traduciéndose en el aumento compensatorio del ión Cl -. Así encontraremos valores de GA dentro del límite fisiológico.

Antes de continuar quiero hacer especial mención a un hecho que puede parecer obvio... *Una oveja no es una vaca, y una cabra no es una oveja.* No debemos buscar valores de referencia para cualquiera de estas dos especies tomando como modelo al ganado vacuno o a terneros; ya sé que la bibliografía es escasa en algunos aspectos y en ocasiones sólo podemos recurrir a ellos, pero que sea de modo orientativo, nunca concluyendo.

Lo mismo es aplicable a la hora de diferenciar entre cabras y ovejas. Desafortunadamente la bibliografía es más escasa para el caprino que el ovino...

Una vez que hemos llegado hasta aquí, ya hemos visto qué parámetros usar y cómo agruparlos para tener un conocimiento detallado de determinados sistemas o funciones. La siguiente cuestión, tan importante o más, radica en las medidas de manejo a adoptar con la muestra de sangre una vez extraída.

Entramos ahora en otra fase...

CONSIDERACIONES HAY QUE TENER PARA QUE LA SANGRE RECOGIDA POR VENOPUNCIÓN PUEDA SER FIABLE PARA UN POSTERIOR ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Hasta aquí hemos expuesto los conceptos y fundamentos teóricos de los diferentes paneles, parámetros que los integran y la utilidad de los mismos.

Raramente una muestra de sangre puede ser procesada al momento de su extracción, por lo que las técnicas de manejo y conservación se hacen imprescindibles. Pero antes de llegar al laboratorio hay una serie de pasos, básicos pero determinantes, para obtener un suero de calidad (Vap y Weiser, 2007; Braun *et al.*, 2010):

1. Recogida de la muestra y desuerado de la misma
2. Conservación de la misma hasta el laboratorio

Recogida de muestra y la obtención del suero

Todos los parámetros anteriormente señalados, salvo los del equilibrio ácido-base, suelen analizarse en suero, ya que los anticoagulantes interfieren en la determinación bioquímica.

En caso de tener que recurrir al plasma, recomendamos no usar ni citrato ni EDTA, que quelan el calcio e interfieren en varias determinaciones bioquímicas. En tales casos se recomienda usar heparina de litio.

En la recogida de sangre, y con el fin de evitar la hemólisis, hay una serie de precauciones a tener en cuenta:

- Llenar del tubo hasta la marca indicadora.
- No agitar la muestra una vez en el tubo.
- Poner el tubo en posición vertical para la correcta formación del coágulo.
- Esperar a la total formación del coágulo para evitar la fibrina.

Tener la precaución de usar tubos al vacío específicos para este tipo de recogidas (Vacutainer®). Se desaconseja el uso de tubos de plástico o cristal reciclados, ya que los restos de detergente interfieren en las mediciones.

Tras el proceso de recogida las muestras deberán ser depositadas en una nevera a 4°C para su transporte (nunca introducir el tubo con sangre recién extraída en refrigeración, pues podemos provocar choque térmico que cause hemólisis). Mantener las muestras extraídas a 4°C ralentizará los procesos metabólicos celulares.

Hay que ser conscientes de que el tiempo corre en nuestra contra, por tanto es importante prever la duración del trayecto para ir provistos de suficiente material refrigerante hasta la llegada al laboratorio.

Ya en el laboratorio, dejamos que las muestras vuelvan a adaptarse a la temperatura ambiental y comenzamos el desuerado y posterior congelación de las alícuotas.

El tiempo transcurrido entre la extracción y el congelado de las alícuotas ha de ser lo más breve posible con el fin de preservar la integridad de los metabolitos, minerales y actividades enzimáticas.

Se sabe que los niveles de glucosa a temperatura ambiente disminuyen un 10% cada hora, debido a la glicólisis; la concentración de fósforo inorgánico, a temperatura ambiente, aumenta debido a la hidrólisis de fosfolípidos y ésteres orgánicos por acción de fosfatasas séricas que transforman fósforo orgánico en inorgánico; finalmente el retraso en la congelación provoca un descenso en las actividades enzimáticas.

Pero además, dejar una muestra de sangre a temperatura ambiente en el laboratorio favorece la evaporación del agua aumentando “falsamente” las concentraciones de los solutos.

En definitiva, un retraso en el desuerado (más de 24 horas) supone que la muestra que midamos presente rangos anormales en determinados parámetros y que nos lleve a falsas conclusiones.

Centrándonos pues en el suero, una buena muestra ha de ser limpia y de color claro esto es, **sin hemólisis**. Si tras el desuerado nos encontramos un suero de color rojizo no sigamos: la muestra al ser analizada va a dar falsos resultados (aumento en los niveles de K, proteínas totales, enzimas...). La hemólisis puede haberse provocado por la propia extracción, haberla generado por una mala manipulación durante el vertido en el tubo (en caso de usar jeringa), el choque térmico (meter la muestra recién extraída en la nevera) o el transporte (no haber refrigerado a 4°C). Son detalles que por simples a veces no se consideran pero que pueden dar al traste con un día de trabajo.

Otras anomalías que nos podemos encontrar, y que se manifestarán con sueros con coloraciones anómalas son la *ictérica* (un suero de color amarillo intenso, resultado de altos niveles de bilirrubina en sangre) o *lipémica* (un suero de aspecto blanquecino y con un anillo de grasa en la superficie). Estos sueros tampoco serán útiles para su procesamiento (ver Tabla 2).

Tabla 2. Efectos de hemólisis, lipemia o ictericia en el suero.

Hemólisis	Lipemia	Ictericia
Aumenta la concentración sérica de K, Mg, Fe y las actividades enzimáticas de LDH, AST, CK	Interfiere en el contenido hídrico del suero, causando falsa hiponatremia	Interfiere en la medición de glucosa, colesterol, creatinina
Interfiere en la determinación de parámetros a 340 nm (técnicas UV) aportando valores impredecibles	Interfiere en la medición de proteínas totales, de bilirrubina, glucosa, fósforo y colesterol	
Interfiere en el desarrollo de reacciones analíticas empleadas con frecuencia en la determinación de glucosa, colesterol y LDH.		

La conservación de la muestra y su envío al laboratorio de análisis

Una vez que tenemos todo el suero limpio, llega la hora de dispensarlo en diferentes viales para su posterior análisis. No se recomienda concentrar toda la muestra en un solo tubo. Es mejor ser previsores y distribuir el total en varias alícuotas por si en un momento dado hemos de repetir un análisis o queremos medir otros elementos que no fueron considerados en un principio. Y es que las continuas congelaciones/descongelaciones desnaturalizan las proteínas.

Cuando enviemos las muestras para su procesamiento, en caso de no hacerlo nosotros, nunca olvidemos mandar las muestras refrigeradas. Tener la precaución de asegurarnos cuanto puede durar el desplazamiento para proveer el contenedor de la suficiente cantidad de hielo.

Bien, pues hasta aquí ya sabemos que utilidad tienen los diferentes parámetros y perfiles, cómo obtener una muestra limpia que pueda ser analizada y cómo mandarla al laboratorio que haga los análisis pertinentes.

Y ahora ¿qué? ¿de qué puede servir lo anteriormente dicho al veterinario encargado de una explotación de ovino o caprino?

Pasemos a otra fase de la ponencia...

CÓMO TENER A NUESTRO REBAÑO CONTROLADO MEDIANTE EL EMPLEO DE LOS PERFILES COMPTOM

Los valores de referencia registrados en la bibliografía deberían de ser tomados como su propio nombre indica, de referencia, pues plasman condiciones generales que no tienen en cuenta la raza, la aptitud, la alimentación o el momento productivo. Lo ideal sería que cada clínico

tuviera sus valores de referencia, sobre un lote control, aplicables a la explotación. Los datos obtenidos le servirían como base para posteriores monitorizaciones (Braun *et al.*, 2010).

La tabla 3 refleja los valores de referencia (en suero) obtenidos para cabras y ovejas recogidos en la bibliografía:

Tabla 3. Valores medios de diferentes parámetros en ovejas y cabras.

Parámetro	Unidades	Ovino	Caprino
Metabolitos			
Bilirrubina total	mg/dL	0.1-0.2	0-0.1
Bilirrubina directa	mg/dL	0	0
Bilirrubina indirecta	mg/dL	0-0.1	0-0.1
Colesterol	mg/dL	52-76	80-130
Creatinina	mg/dL	0.8-1.3	0.7-1.0
Glucosa	mg/dL	56-92	53-81
Lactatos	mg/dL	9-12	---
Proteínas totales	g/dL	6.6-8.6	6.8-8.3
Albúmina	g/dL	2.7-3.7	3.2-3.8
Globulinas	g/dL	2.8-5.4	3.1-4.8
Nitrógeno ureico	mg/dL	14-37	19-31
Enzimas			
<i>Fosfatasa alcalina</i> (FA)	UI/L	50-300	27-210
<i>Aspartato aminotransferasa</i> (AST)	UI/L	60-280	46-161
<i>Creatin kinasa</i> (CK)	UI/L	100-547	104-219
<i>γ-Glutamil transferasa</i> (GGT)	UI/L	40-94	34-65
<i>Lactato deshidrogenasa</i> (LDH)	UI/L	238-440	123-392
<i>Sorbitol deshidrogenasa</i> (SDH)	UI/L	18-77	2-57
Electrolitos y minerales			
Sodio	mmol/L	139-152	142-155
Potasio	mmol/L	3.9-5.4	3.5-6.7
Cloro	mmol/L	95-103	99-110
Calcio	mg/dL	11.5-12.8	8.9-12.7
Fósforo	mg/dL	5.0-7.3	6.5
Magnesio	mg/dL	2.2-2.8	2.8-3.6
Equilibrio ácido-base			
pH		7.32-7.54	7.37-7.40
pCO ₂	mmHg	37-46	44.4-46
CO ₃ H ⁻	mmol/L	20-25	25-28
TCO ₂	mmol/L	21-28	---
Ganancia aniónica	mmol/L	12-24	18-21

Fuente: Smith (2010).

A continuación nos centraremos en las estrategias a seguir para hacer la monitorización de un rebaño frente a enfermedades de la producción.

Antes de nada, hemos de señalar que la interpretación que hagamos de los resultados obtenidos para el grupo o lote diferirá mucho de la interpretación que pudiéramos hacer de un individuo en concreto.

La interpretación de los resultados obtenidos para el lote testado requiere el conocer cómo esos parámetros afectan a la producción (más que si se hallan por encima o por debajo de los rangos fisiológicos); haber realizado una buena selección de los grupos de estudio y sobre todo, centrarnos en detectar y monitorizar enfermedades subclínicas más que las evidencias clínicas (Oetzel, 2004).

Los resultados que obtengamos pueden interpretarse bien en función de los valores medios obtenidos para el grupo experimental o bien en función de la proporción de animales que están por encima o por debajo de un punto de corte (valor de referencia). La fisiopatología de la enfermedad metabólica determinará que manejo será el adecuado. Si un metabolito está asociado con una enfermedad, bien por superar o no llegar al umbral biológico (valor de referencia, punto de corte), debería ser evaluado como un *dato orientativo* (centinelas) y su valor en el grupo no debe ser extrapolado al individuo. Es decir, a veces no nos quedaremos con el dato medio del grupo, sino que hemos de ver qué cantidad de animales, del lote testado, está por encima o por debajo del punto de corte (Oetzel, 2004).

Por ejemplo, un pH ruminal ≤ 5.5 coloca al animal ante un riesgo de acidosis ruminal, con las consiguientes complicaciones. Valores de pH ruminal por encima de 5.5 le libran. Por tanto determinar el valor medio de pH ruminal en un lote puede no ser interesante; lo interesante es saber cuántos animales están por debajo del punto de corte (5.5).

Otro ejemplo: las cetosis o toxemias subclínicas pueden monitorizarse midiendo las concentraciones de BHB en sangre. Esta es una enfermedad umbral, ya que los animales presentan clínica cuando se elevan las concentraciones de cuerpos cetónicos. Tener pues valores bajos de BHB no tiene relevancia biológica para nosotros. La alarma surgirá cuando haya un número elevado de animales que tengan valores de BHB altos en momentos críticos como es el inicio de lactación.

Lo mismo ocurre para los AGL (NEFA). Su aumento es indicador de la presencia de un BEN. La presencia de un elevado número

de animales con altos niveles de NEFA, aunque el valor medio sea normal, nos señalan un posible desajuste de la ración.

¿Cuál es el número ideal de animales dentro de un grupo?

La valoración de los perfiles metabólicos es válida solo cuando que se haya sacado muestras de un número representativo de animales. A diferencia de un muestreo de investigación, donde se trabaja con intervalos de confianza del 95%, en condiciones de campo el intervalo de confianza se reduce al 75%, lo que significa que podemos trabajar con un menor número de individuos.

¿Y cuál es este? Pues depende del número de animales en el rebaño y de los lotes que queramos hacer. Teniendo en cuenta las diferentes opiniones vertidas en la bibliografía, podemos marcar un rango mínimo de 3 (imprescindible para iniciar cualquier procesamiento estadístico) y un máximo de 12.

En nuestra experiencia, se recomienda analizar el 10% de la población siempre y cuando mantengamos los criterios de homogeneidad de la muestra (sexo, edad, raza, estado fisiológico).

Si lo que estamos haciendo es testar un producto o un elemento nuevo en la ración, hemos de tener en cuenta las normas de protección animal (cabras y ovejas quedan recogidas en el RD 53/2013 sobre experimentación animal) y seguir la siguiente fórmula (Charan y Kantharian, 2013):

$E = \text{número total de animales empleados} - \text{número total de grupos.}$

Un buen valor de E, ha de estar entre 10 y 20.

Supongamos que un clínico quiere testar la eficiencia de un nutriente en la ración, para lo cual hace cuatro grupos (diferentes porcentajes del nutriente; hemos de considerar un grupo control y los 4 experimentales) con 10 cabras cada uno. En este caso el valor E será:

$$E = (10 \times 5) - 5 = 45.$$

El resultado supera a 20, lo que indica que se están empleando más animales de los necesarios. Sin embargo si reducimos el n de los grupos a 5: $E = (5 \times 5) - 5 = 20$. E está dentro del rango correcto, y el número de animales/grupo es adecuado.

Este es un método, de los muchos que se pueden aplicar dependiendo del programa estadístico empleado.

Factores a considerar para obtener grupos de estudio fiables

Cuando queremos iniciar un estudio de campo, independientemente del número de animales, hemos de tener precaución de que los animales agrupados sean homogéneos, esto es que presentan similitud en lo que respecta a edad, raza, sexo, estado fisiológico, peso, manejo... Se trata de ir eliminando variables que actuarían como *artefactos* en nuestros resultados interfiriendo en la valoración que hagamos y llevándonos a conclusiones erróneas.

Por ejemplo (Castillo *et al.*, 1997; 1999; 2000; 2011a y b; 2015; Castillo y Hernández, 2013; Perez-Santos *et al.*, 2014).

- Si queremos evaluar el efecto de un producto o alimento sobre el metabolismo y el estado de salud, cojamos animales de edad parecida y en donde ni la preñez ni la gestación interfieran (p. ej. pasada la curva de lactación).
- Si queremos coger animales para hacer grupos controles en cualquier estudio, seleccionemos animales que se encuentren bien en la fase media de la preñez, ya que es un momento en el que no priman demandas metabólicas destinadas al feto y/o la lactación.
- Si queremos hacer estudios sobre la fase de transición, seleccionemos animales que tengan siempre fechas cercanas de parto (± 1 semana).

Y así sucesivamente...

Factores de variación a considerar

Como habíamos dicho, los valores de la bibliografía han de ser orientativos (saber si los datos que tenemos están encuadrados en los rangos normales de la especie), pero luego cada explotación, y sobre todo cuando esta tiene un tamaño considerable, ha de tener sus propios valores, ya que hay factores que marcan la diferencia, como son (Radostits *et al.*, 2006; Kaneko *et al.*, 2008; Smith, 2010):

1. *La especie*

Hay autores que señalan que la mayoría de los parámetros varían muy poco en función de la especie si bien es cierto que puede haber cambios en los valores de algunos electrolitos o de las actividades enzimáticas (Smith, 2010).

2. *La raza*

Las variaciones raciales han sido ampliamente estudiadas. No podemos esperar que los perfiles metabólicos sean iguales para razas

lecheras seleccionadas como la Assaf que para otras rústicas y de aptitud cárnica como la raza Gallega. La mayor actividad metabólica llevada a cabo por la primera determina valores de glucosa y AGL superiores a los de la segunda, con apenas exigencias productivas y donde podemos encontrarnos con niveles de creatinina y urea superiores.

Para caprino podríamos decir lo mismo. La raza Murciano-Granadina ha mostrado ser una perfecta máquina productora de leche capaz de mantener unos parámetros metabólicos y ácido-básicos difícilmente extrapolables a otras razas.

3. *La edad*

Son muchas las diferencias que encontramos entre un individuo joven y otro adulto; por ejemplo los animales lactantes tienden a presentar menores niveles de urea (SUN), de proteínas totales y globulinas y superiores de GGT, fósforo y FA que un adulto.

4. *Sexo*

A excepción del efecto que las hormonas sexuales tienen a través de la preñez y lactación, puede decirse que pocas diferencias hay entre machos y hembras en lo que respecta a los perfiles metabólicos.

5. *Momento del día en que se muestra.*

Es recomendable que todos los animales sean muestreados en estado de ayunas. En caso de no ser posible, tener la precaución de que hayan pasado al menos 4 horas desde la última ingesta, para no encontrarnos valores de glucosa o AGL altos y que puedan llevarnos a equívocos.

CONCLUSIONES

Tras lo anteriormente expuesto, y a modo de conclusión podemos señalar las siguientes frases-clave:

- La medición de los perfiles metabólicos es hoy en día una herramienta fundamental en la monitorización del estado de salud de un rebaño.
- Los perfiles metabólicos ayudan al diagnóstico y prevención de enfermedades asociadas a la producción.
- La fase preanalítica de los perfiles metabólicos condiciona la calidad de los resultados obtenidos.

- Las explotaciones de mediano-gran tamaño deberían contar con sus propios perfiles metabólicos medidos, evaluando cambios en los mismos ante variaciones en la ración, en el sistema de explotación o la emergencia de trastornos visibles en la producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braun, J.P., Trumel, C., Bézille, P. (2010). Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Ruminant Research*, 92, 10–18.
- Castillo, C., Abuelo, A., Hernández, J. (2015). Desequilibrio del magnesio en rumiantes. *Ganadería*, enero-febrero, 48-50.
- Castillo, C., Benedito, J.L., Pereira, V., Sotillo, J., Suárez, A., Méndez, J., Vázquez, P., Hernández, J. (2011a). Influence of grain processing in regard to serum metabolites and enzymes for finishing bull calves. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20, 483-492.
- Castillo, C., Benedito, J.L., Pereira, V., Vázquez, P., Gutiérrez, C., Hernández, J. (2009). Acid-base status and serum L-lactate in growing/finishing bull calves fed different high-grain diets. *Livestock Science*, 120, 66-74.
- Castillo, C., Hernández, J. (2013). El laboratorio en la monitorización de la oveja gestante. *Ganadería*, enero-febrero, 45-47.
- Castillo, C., Hernández, J., Benedito, J.L., López, M., Miranda, M., Gutiérrez, C., Sotillo, J. (2000). Quantitative evaluation of acid-base balance on milk producing goat: effect of sex and milk yield. *Veterinarni Medicina*, 45(8), 241-246.
- Castillo, C., Hernández, J., López, M., Ayala, I., Miranda, M., Benedito, J.L. (2001b). A different point of view of glutathione peroxidase: its relationship to the metabolic changes associated with nutritional management in Assaf ovine breed. *Archives of Animal Breeding*, 44, 305-312.
- Castillo, C., Hernández, J., López, M., Ayala, I., Miranda, M., Benedito, J.L. (2001a). Relación entre el metabolismo energético, el equilibrio ácido-base y el estado productivo de la oveja de raza Gallega. *Veterinaria Mexico*, 32, 39-45.
- Castillo, C., Hernández, J., López, M., Miranda, M., Benedito, J.L. (1999). Effect of physiological stage and nutritional management on some serum metabolite concentrations in Assaf ovine breed. *Archives of Animal Breeding*, 42, 377-386.
- Castillo, C., Hernández, J., López, M., Miranda, M., García, P., Benedito, J.L. (1997). Relationship between venous pH, serum calcium and proteins in the course of anoestrus, pregnancy and lactation in the ewe. *Archives of Animal Breeding*, 40, 257-263.
- Castillo, C., Hernández, J., Pereira, V., Vázquez, P., Sotillo, J., Miranda, M., Benedito, J.L. (2011b). Serum metabolite concentrations and enzyme activities in finishing bull calves fed different types of high-grain diets. *Archives Animal Breeding*, 54(2), 137-146
- Castillo, C., Mantecón, A.R., Sotillo, J., Gutiérrez, C., Abuelo, A., Hernández, J. (2015). *Posidonia oceanica* banquettes as a substitute for straw in dairy goat rations: metabolic and productive effects. *Journal of Food Science and Agriculture*.
- Charan, J., Kantharian N.D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 4(4), 303-306.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego, CA.

- Oetzel, G.R. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. In: Cook, N.B., Nordlund, K.V. (editors). *Managing the transition cow to optimize health and productivity*. Saunders, Philadelphia. pp. 651–74.
- Payne, J.M., Dew, S.M., Manston, R., Faulks, M. (1970). The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Veterinary Record* 87(6): 150-157.
- Pérez-Santos, M., Hernández, J., Benedito, J.L., Abuelo, A., Castillo, C. (2014). Biochemical variables from Holstein-Friesian calves older than one week are comparable to those obtained from adult animals of stable metabolic status on the same farm. *Veterinary Clinical Pathology*, 1(7).
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. (2006). *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. Saunders, N.Y.
- Russell, K.E., Roussel, A.J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics Food Animal*, 23, 403–426.
- Sargison, N.D., Scott, P.R. (2010). The implementation and value of diagnostic procedures in sheep health management. *Small Ruminant Research*, 92, 2–9.
- Smith, B.P. (2010). *Medicina interna de grandes animales*. 4^a ed. Elsevier, Barcelona.
- Vap, L.M., Weiser, M.G. (2007). Field Chemistry Analysis. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 23, 427–442.

WHAT DO OFFER CLINICAL ANALYSIS IN ASSESSING THE HEALTH AND PRODUCTION OF A HERD? THE VALIDITY OF THE METABOLIC PROFILES.

SUMMARY

Production diseases are established when there is an intense imbalance between what is offered to the animal (as food) and what is required (in the form of milk/meat/offspring). In such situations the solution involves the assessment of animal ration or the health program, but also their health status. This information can only be accessed by performing blood tests, measuring a series of specific parameters and interpreting them in the scenario in which the animals are, in what is known as *clinical biochemistry*. The aim of this paper is to address what information we get through the measurement of the different profiles, with special emphasis on the *metabolic profiles*; when to do it and not least, what considerations should be taken so that blood collected by venipuncture can be reliable for further analysis and interpretation.

Key words: Metabolic profiles, laboratory, production.

MANSO, T.*; GALLARDO, B. y GUERRA-RIVAS, C.

Área de Producción Animal. Dpto. Ciencias Agroforestales. E.T.S. Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid.

*tmanso@agro.uva.es

RESUMEN

La alimentación es el factor con mayor influencia en la calidad de la leche y de la carne de ganado ovino. Debido a que la grasa es el principal componente de los alimentos relacionado con la salud humana, en este trabajo se presentan los efectos de la alimentación sobre la composición de la grasa de la leche de oveja y de la carne de cordero y se discuten algunas estrategias nutritivas cuyo objetivo es aumentar el nivel de ácidos grasos saludables, tales como el ácido linoleico conjugado y los ácidos grasos omega-3. Además, el empleo de subproductos de la industria agroalimentaria ricos en compuestos fenólicos, como es el caso del orujo de uva, en la dieta del ganado ovino y algunos de sus efectos sobre la calidad de la leche y de la carne son también presentados.

Palabras clave: ovino, leche, carne, ácidos grasos.

INTRODUCCIÓN

Los productos del ganado ovino (leche y carne) están considerados alimentos de gran calidad por su alto valor nutritivo y sus características organolépticas. Sin embargo, y aunque se trata de productos tradicionales y de gran arraigo social, su consumo ha sido cuestionado en algunas ocasiones debido, en parte, a la imagen negativa que el consumidor tiene de la cantidad y composición de la grasa que contienen. Así, la grasa de la leche y de la carne del ganado ovino presenta un alto contenido en ácidos grasos saturados y bajo contenido en ácidos grasos

poliinsaturados y ha sido relacionada con la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

Sin embargo, esta idea negativa de la grasa de los rumiantes ha ido cambiando en los últimos años, ya que se ha podido comprobar que algunos ácidos grasos saturados son aterogénicos sólo si se ingieren en cantidades excesivas y que contiene algunos ácidos grasos insaturados que son potencialmente beneficiosos para la salud humana (Parodi, 2009). Entre los ácidos grasos de los rumiantes con propiedades bioactivas destacan algunos ácidos grasos insaturados como son el ácido vacénico (VA), el ácido linoleico conjugado (CLA), en particular su isómero más abundante denominado ácido ruménico (RA, *cis-9 trans 11 CLA*), y los ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) por lo que existe un gran interés por aumentar sus niveles en la leche y en la carne (Lock y Bauman, 2004; Raes *et al.* 2004).

Al CLA en particular al isómero mayoritario *cis-9 trans-11 CLA*, se le han atribuido numerosas propiedades biológicas, anticancerígenas, antiobesidad y potenciadoras del sistema inmune entre otras. Los ácidos grasos omega-3, entre los que se encuentran el ácido α -linolénico (ALA, C18:3 n3), 22:6 n-3 (DHA) y 20:5 n-3 (EPA), se han relacionado principalmente con reducciones del riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensión, cáncer y alteraciones neurológicas (Lock and Baumann, 2004).

La alimentación del ganado ovino es el factor con mayor influencia sobre la calidad de los productos, por ello, las estrategias nutritivas han sido las más utilizadas para modificar la composición de la grasa y adaptarla a las demandas de los consumidores. En este sentido, la incorporación de grasas en las raciones, junto con las posibilidades que ofrece la biohidrogenación microbiana a nivel ruminal, han sido señalados como métodos efectivos para incrementar los niveles de ácidos grasos funcionales en la leche y en la carne. Estos cambios de alimentación deben realizarse con precaución ya que a veces conllevan aumentos de ácidos grasos *trans-10* asociados con efectos negativos para la salud humana (Shingfield *et al.*, 2008).

El aumento en el grado de insaturación de la grasa, la hace también mas susceptible a la oxidación y, por tanto, con vida útil más corta. Una de las estrategias mas comúnmente utilizadas para prevenir la oxidación lipídica de la carne es la utilización de antioxidantes en las raciones. En este sentido, la suplementación de la dieta con sustancias de naturaleza fenólica ha sido sugerida como estrategia de alimentación para mejorar las características funcionales de la carne y de la leche de pequeños rumiantes, así como para mejorar la estabilidad oxidativa y el color de

la carne a lo largo de su almacenamiento (Nieto *et al.*, 2010; Vasta y Luciano, 2011).

El orujo de uva es un subproducto de la elaboración del vino que presenta un alto contenido en compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante que puede actuar sobre la calidad de los productos obtenidos (Makris *et al.*, 2007; Spanghero *et al.*, 2009). Por ello, el empleo de este subproducto se está estudiando como alternativa interesante de alimentación con bajo coste para incrementar el contenido en ácidos grasos funcionales de la grasa y la estabilidad oxidativa de la carne.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, en este trabajo se presentan algunas de las estrategias nutricionales basadas en el empleo de grasas y dirigidas a incrementar el nivel de ácidos grasos con efectos bioactivos en la leche y en la carne de ganado ovino. Asimismo, se presentan algunos de nuestros resultados sobre el empleo de orujo de uva en las raciones de ganado ovino como posible estrategia para la mejora del perfil de ácidos grasos y como alternativa a otros antioxidantes de origen sintético que favorecen la estabilidad oxidativa de la carne.

METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS EN EL RUMEN

La grasa de la leche y de la carne difiere notablemente de la grasa que consumen los rumiantes, ya que los ácidos grasos que abandonan el rumen son distintos de los presentes en la dieta. Este hecho se produce como consecuencia de los procesos de digestión y metabolismo de las grasas que tienen lugar a nivel ruminal, en la glándula mamaria y en los tejidos.

El metabolismo de las grasas a nivel ruminal incluye de forma sucesiva su hidrólisis y biohidrogenación. Debido a que los ácidos grasos poliinsaturados mayoritarios presentes en los alimentos que consumen los rumiantes son el ácido linoleico (*cis*-9 *cis*-12 C18:2) y α -linolénico (ALA, *cis*-9 *cis*-12 *cis*-15 C18:3 n-3), han sido las rutas de biohidrogenación más estudiadas y los intermediarios producidos mejor identificados.

De acuerdo con la Figura 1, durante el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico a ácido esteárico en el rumen se generan algunos ácidos grasos intermediarios tales como el ácido linoleico conjugado (CLA), cuyo isómero mayoritario es el ácido ruménico (RA, *cis*-9 *trans*-11 CLA), y el ácido vacénico (VA, *trans*-11 C18:1) (Shingfield *et al.* 2010). La biohidrogenación del ácido α -linolénico también pasa por la formación de VA, sin embargo, y aunque la conversión de VA a esteárico es idéntica, no genera RA, sino intermediarios distintos. Al RA y al VA,

se les han atribuido efectos beneficiosos para la salud por lo que existe un gran interés por aumentar sus niveles en leche.

Una de las estrategias más empleadas para aumentar el nivel de VA y RA en la carne y en la leche ha sido incrementar sus precursores a nivel ruminal mediante el empleo de grasas ricas en ácido linoleico y α -linolénico como es el caso de los aceites y grasas de origen vegetal.

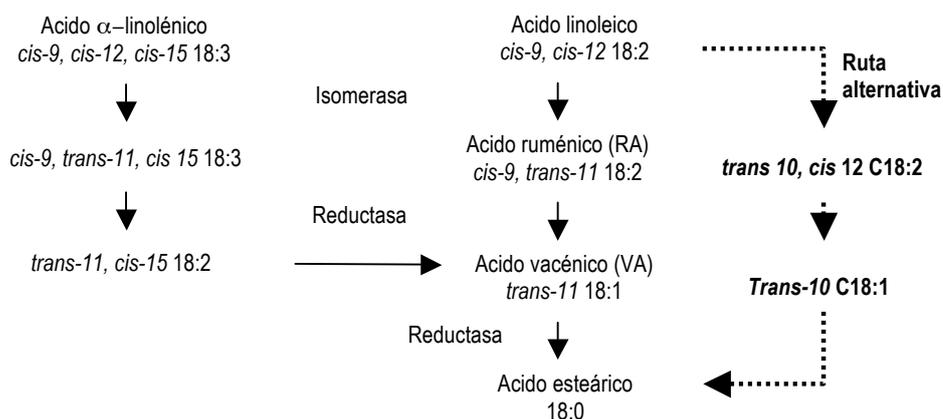


Figura 1. Biohidrogenación del ácido linoleico y α -linolénico a nivel ruminal. Adaptada de Griinari y Bauman (1999).

Sin embargo, las raciones suplementadas con PUFA, bajas en fibra, con un exceso de almidón rápidamente fermentable, como es el caso de los piensos y raciones empleados en sistemas intensivos, o con pequeño tamaño de partícula, reducen el pH ruminal y afectan negativamente a las bacterias celulolíticas, principales responsables de la eficacia de la biohidrogenación y/o producen vías alternativas (ver Figura 1) con aumentos de otros ácidos grasos *trans* como es el caso de *trans*-10 *cis*-12 C18:2 y el *trans*-10 C18:1. Estos ácidos grasos han sido asociados con un mayor riesgo de padecer enfermedades coronarias y en algunas ocasiones con efectos negativos sobre los rendimientos productivos de los animales lecheros asociados al síndrome de baja grasa, por lo que cualquier estrategia de alimentación debe evitar la formación de estos ácidos grasos *trans*-10.

El metabolismo ruminal de otros ácidos grasos omega-3 menos frecuentes en dietas de rumiantes, tales como 20:5 n-3 (EPA) y 22:6 n-3 (DHA), es menos conocido. Algunos autores (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004) han señalado que EPA y DHA son biohidrogenados totalmente a nivel ruminal y, aunque los mecanismos responsables y los productos intermediarios de su biohidrogenación son desconocidos, podría explicar la baja transferencia del EPA y DHA a la grasa de la leche y de la carne. Por otra parte, se ha podido comprobar que estos ácidos grasos de cadena larga, al igual que ocurre con el ácido linoleico, contribuyen

a la acumulación de VA a nivel ruminal debido a la inhibición que producen en la reducción de *trans*-11 C18:1 a C18:0. Por este motivo, la incorporación de ácidos grasos de cadena muy larga en las raciones también se ha propuesto como estrategia para aumentar, además de los ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3), los niveles de RA en la leche a partir de VA (Lock y Bauman, 2004).

Por otra parte, la composición de los lípidos de la leche y de la carne no depende exclusivamente de los ácidos grasos absorbidos en el intestino, sino que han sido descritas transformaciones de estos ácidos grasos a nivel de la glándula mamaria y de los tejidos debidas a un complejo sistema enzimático de desaturasas y elongasas. Las células mamarias y las del tejido muscular presentan una potente actividad Δ^9 -desaturasa. De hecho, se ha estimado que el 64 y 97% del *cis*-9 *trans*-11 CLA de la leche procede de la síntesis endógena en la glándula mamaria a partir de ácido vacénico (Bauman *et al.*, 2003). Por este motivo, el aumento de la actividad Δ^9 -desaturasa en los tejidos también se ha propuesto como estrategia para aumentar, además de los ácidos grasos omega-3, los niveles de RA la leche a partir de VA (Lock y Bauman, 2004).

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, se han planteado distintas alternativas de alimentación del ganado ovino con el fin de modificar el perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne de acuerdo con las tendencias actuales.

ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN PARA MODIFICAR EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE OVEJA

De las estrategias de alimentación empleadas, la suplementación con grasas y las raciones con un nivel y calidad de forraje que favorezca un ambiente ruminal adecuado para la biohidrogenación ruminal, han sido las alternativas más estudiadas y que han presentado resultados más favorables para incrementar los niveles de ácidos grasos con efectos beneficiosos para la salud humana (RA, VA y PUFA n-3) en la leche. Por otra parte, el queso y los productos lácteos reflejan el perfil de ácidos grasos de la leche empleada en su fabricación, por lo que cualquier estrategia de mejora de la calidad de la leche es aplicable a los productos lácteos obtenidos (Nudda *et al.*, 2005; Bodas *et al.*, 2010).

Suplementación con grasas

El efecto de las grasas sobre el perfil de ácidos grasos de la leche depende de su composición y de la forma en que se incorporen en las raciones. Las grasas se pueden añadir en forma de aceites libres,

como semillas de oleaginosas, enteras o procesadas y protegidas de la biohidrogenación ruminal, siendo los jabones cálcicos la forma de protección más utilizada.

En la Figura 2 se presentan los efectos de distintas fuentes de grasa ensayadas en nuestro grupo de investigación y disponibles comercialmente sobre los niveles de ácido ruménico, de ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) y de ácidos grasos omega-3 de cadena larga (VLCFA n-3) en la leche.

Los aceites libres son las fuentes de grasa más accesibles para los microorganismos responsables de la biohidrogenación a nivel ruminal y permiten aumentar el contenido en ácido ruménico, ácido vacénico y ácidos grasos poliinsaturados de la leche. En un trabajo realizado por Bodas *et al.* (2010) en ganado ovino lechero, y cuyos resultados se presentan en la Figura 2, donde se comparó el efecto de raciones cuya diferencia residía únicamente en el tipo de aceite incorporado (palma, oliva, soja o linaza) pudimos comprobar que, a ingestiones de aceite de 70 gramos al día, el aceite con mayor contenido en ácido linoleico (aceite de soja) fue el más efectivo para aumentar los niveles de RA y el aceite de linaza, alto en ácido α -linolénico (ALA, C18:3n-3), además de incrementar los niveles de ALA, también generó aumentos considerables de RA en la leche aunque no tan elevados como los del aceite de soja. En el caso del aceite de soja el RA es el resultado de los procesos de biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen y también se genera por desaturación del VA a nivel de la glándula mamaria, mientras que en el caso del ácido α -linolénico, mayoritario en el aceite de linaza, el RA se genera únicamente en la glándula mamaria a partir de VA.

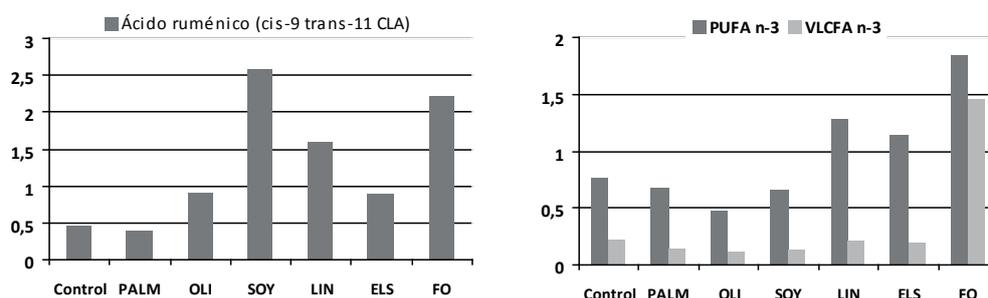


Figura 2. Porcentaje (% de ácidos grasos totales) de ácido ruménico (RA, *cis-9 trans-11 CLA*), ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) y de ácidos grasos omega-3 de cadena larga (VLCFA n-3) en la leche obtenida a partir de ovejas suplementadas en la dieta con un 3% de distintas fuentes de grasa (Control: sin grasa añadida; PALM: aceite de palma hidrogenado; OLI: aceite de oliva; SOY: aceite de soja; LIN: aceite de lino; ELS: Semilla extrusionada de lino; FISH: Jabón cálcico de aceite de pescado) (Bodas *et al.* 2010; Manso *et al.*, 2011; Gómez-Cortés *et al.*, 2014; Gallardo *et al.*, 2015).

Nudda *et al.* (2014) al analizar datos de distintos experimentos han señalado una relación lineal ($R^2 = 0,78$) entre la cantidad de aceite de soja ingerido y el contenido en RA de la leche de manera que, cuando la ingestión de grasa oscila entre 50 y 100 gramos al día, se pueden alcanzar niveles de CLA entre el 2 y el 3% en la leche, mientras que concentraciones superiores al 3% solamente son alcanzadas con dosis muy altas de aceite de soja (140 g/día). Es preciso considerar que la incorporación de altos niveles de grasas en las raciones pueden tener efectos negativos sobre la ingestión y el metabolismo de las bacterias celulolíticas responsables de la digestión de la fibra disminuyendo la producción de ácido acético y, por tanto, la producción de grasa de la leche. Este hecho provoca aumentos significativos de ácidos grasos *trans*-10 asociados con un mayor riesgo de padecer enfermedades coronarias, lo que podría cuestionar la calidad de la leche producida (Shingfield *et al.*, 2008). Para evitar estos efectos negativos se han empleado grasas y aceites protegidos de la biohidrogenación ruminal, siendo las semillas y los jabones cálcicos los más utilizados.

Al incorporar semillas enteras de oleaginosas, el aceite que contienen se encuentra disponible a nivel ruminal de forma más gradual que cuando se suministra de forma libre. Este hecho permite una reducción más lenta pero mas completa de los ácidos grasos insaturados generando menores niveles de VA y RA que al emplear aceites libres.

La inclusión de semillas procesadas (extrusionadas, tratadas por calor, micronizadas o molidas) resulta más efectiva que las semillas enteras para generar RA en la leche, ya que los tratamientos permiten que los triglicéridos de las semillas sean más accesibles a los microorganismos del rumen para su lipólisis y biohidrogenación que las semillas no tratadas (Doreau *et al.*, 2009). Además, el empleo de grasas en forma de semillas también permite mantener bajos y estables los niveles de ácidos grasos *trans*-10 que se producen cuando se suministran aceites libres (Gómez-Cortés *et al.*, 2013).

Los procesos de desaturación y elongación de ácido α -linolénico (C18:3 n-3) en la glándula mamaria explican los aumentos de ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3 y VLCFA n-3 observados en la leche al incorporar aceite de linaza y semilla extrusionada de lino (Figura 2). Este aspecto presenta un gran interés debido a la relación de los PUFA n-3, en particular de los de cadena larga, con la prevención de diversas enfermedades.

Trabajos realizados con otras grasas bajas en ácido linoleico y α -linolénico también han proporcionado aumentos en el nivel de RA, VA y PUFA n-3 en la leche. Es el caso de las grasas de origen marino (aceites de

pescado y algas) ricas en ácidos grasos de cadena larga (EPA y DHA) cuyo interés radica en que provocan cambios en la proliferación de bacterias responsables de la conversión de VA a ácido esteárico a nivel ruminal, favoreciendo el flujo post-ruminal de VA y aumentando la síntesis endógena de RA a través de la acción de la enzima Δ^9 -desaturasa en la glándula mamaria. Siempre que exista una fuente de ácido linoleico que promueva la producción de VA a nivel ruminal, la inhibición del último paso de la biohidrogenación y la acumulación de VA en el rumen ha sido sugerida como alternativa para lograr una mayor producción de RA de origen endógeno en la glándula mamaria y por lo tanto, para incrementar su nivel en leche (AbuGhazaleh y Jenkins, 2004; Toral *et al.* 2010).

En cuanto al interés del empleo de grasas de origen marino (aceites de pescado y algas marinas) con cantidades importantes de 20:5 n-3 (EPA) y C22:6 n-3 (DHA) para incrementar los niveles de PUFA n-3 de cadena larga (VLCFA n-3) en la leche, los resultados obtenidos hasta el momento indican que, aunque incrementan estos ácidos grasos en la leche (Figura 2), la transferencia del EPA y DHA de la ración a la leche es baja, aún cuando las grasas se suministran en forma de jabones cálcicos (Lock y Bauman, 2004). El bajo índice de transferencia de éstos ácidos grasos, podría ser debido al hecho de que los PUFA n-3 de cadena larga son altamente biohidrogenados en el rumen (Wachira *et al.*, 2000) y a que, por la forma en que son transportados en el plasma, se produce un menor aporte de estos FA a la glándula mamaria (Kittessa *et al.*, 2001).

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, la utilización de grasas de origen marino como estrategia nutritiva para aumentar los niveles de PUFA n-3 en la leche es muy limitada. Por otra parte, el elevado precio de las grasas de origen marino y el hecho de que se asocien a fuertes bajadas en la producción y contenido en grasa de la leche hace que, hoy en día, su empleo no sea práctico a nivel de explotación.

En general, se recomiendan niveles máximos de un 6% de grasa en las raciones para garantizar que las mejoras en el perfil de ácidos grasos no vayan acompañadas de efectos adversos en la producción y composición de grasa de la leche.

Nivel y tipo de forraje

Mantener el funcionamiento del rumen en condiciones óptimas mediante un consumo adecuado de forraje de alta calidad es otra de las estrategias que permiten obtener mayores niveles de VA, RA y PUFA n-3 en la leche.

Los forrajes son una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados en las dietas de los rumiantes. Por ello, la alimentación en pastoreo de las ovejas provoca mayores niveles en la leche de ácidos grasos

insaturados, de VA, RA y PUFA n-3 que cuando se emplean raciones mezcladas o forrajes conservados (Nudda *et al.*, 2005).

Los efectos del pasto sobre el contenido en grasa de la leche están relacionados con el alto contenido en ácido α -linolénico (ALA) del pasto verde. De manera que, a medida que aumenta la ingestión de pasto, el contenido en ALA ($r = 0,69$) y CLA aumenta ($r = 0,79$) (De Renobales *et al.*, 2012). En general, los pastos frescos, dan lugar a mayores niveles de RA, VA y ALA en la grasa de la leche que henos y ensilados y los incrementos en el RA se reducen a medida que el pasto madura (Nudda *et al.* 2005; Joy *et al.*, 2012). Ha sido señalado que este efecto no se debe únicamente a diferencias en la composición de los forrajes y que podría estar relacionado con la existencia en el pasto de compuestos que estimulan la producción de VA cuando está fresco y que lo disminuyen cuando esta maduro. Asimismo, estos compuestos podrían inhibir la biohidrogenación completa de VA a esteárico de la misma forma que, tal y como se ha indicado anteriormente, actúan otros ácidos grasos de cadena muy larga como el EPA y DHA (Lock y Baumann, 2004). En general, algunos compuestos fenólicos de las plantas como los taninos afectan a la fermentación ruminal y también ha sido señalado que podrían modificar el perfil de ácidos grasos de la leche (Vasta *et al.*, 2008).

Aunque son escasos los datos referentes al empleo de distintos forrajes conservados sobre el perfil de ácidos grasos de la leche de oveja, Reynolds *et al.* (2006) han puesto de manifiesto que la concentración de RA fue mayor y la de ALA menor en la leche de ovejas alimentadas con ensilado de maíz que con alfalfa en pellets y que el heno de alfalfa presenta mejor aptitud para incrementar los niveles de RA en la leche. En general, las dietas con baja relación forraje:concentrado y asociadas a un pH ruminal inferior a 6 reducen la biohidrogenación de ácidos grasos y dan lugar a rutas alternativas y a cambios en los niveles de CLA. Sin embargo, el ganado ovino parece ser menos sensible que el ganado vacuno a cambios en la relación forraje:concentrado de la ración (Nudda *et al.*, 2014) y de hecho, ovejas alimentadas con niveles crecientes de forraje (30:70, 50:50 y 70:30) no presentaron cambios en el contenido en RA de la leche (Gómez-Cortés *et al.*, 2011).

ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN PARA MODIFICAR EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE CORDERO

Suplementación con grasas

En la composición de la grasa de los corderos alimentados mediante lactancia natural, influye la composición de la ración que consumen

las ovejas (Scerra *et al.*, 2007; Joy *et al.*, 2012), por ello, las estrategias indicadas para mejorar la calidad de la grasa de la leche resultan también útiles para mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne de los corderos lechales producidos.

En la Figura 3 se presentan los efectos de distintas fuentes de grasa en la ración de ovejas churras empleadas en algunos trabajos de nuestro grupo de investigación y disponibles comercialmente sobre los niveles de ácido ruménico (*cis-9 trans-11 CLA*), de ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) y de ácidos grasos omega-3 de cadena larga (VLCFA n-3) de la grasa intramuscular de corderos lechales.

Así, en trabajos realizados por Manso *et al.* (2011) y Gallardo *et al.* (2014), y tal y como se presenta en la Figura 3, se ha podido comprobar que la composición de la grasa de la carne de cordero lechal depende del perfil de ácidos grasos de la fuente de grasa suministrada en la alimentación de las ovejas, así como de la forma de incorporación. Los contenidos en VA y RA se vieron reflejados en los depósitos grasos de los lechales ya que se incorporan preferentemente en los triglicéridos. Las variaciones en los niveles de PUFA n-3 se reflejaron principalmente en la grasa intramuscular de los corderos lechales debido al contenido en fosfolípidos de las membranas de la fibras musculares, alcanzando valores de PUFA n-3 muy superiores a los de la leche (Raes *et al.* 2004).

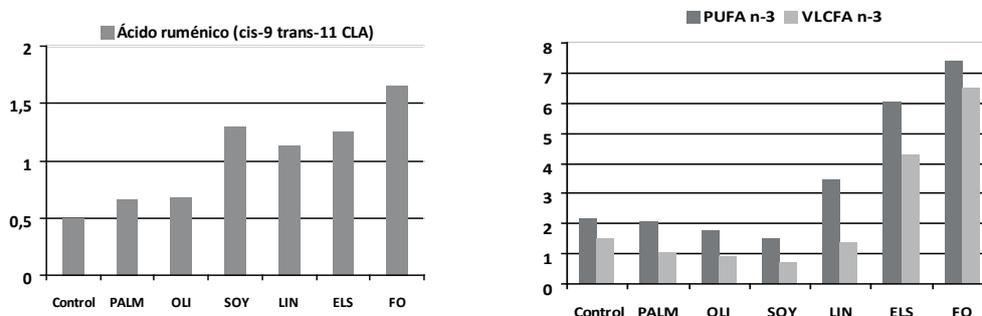


Figura 3. Porcentaje (% de ácidos grasos totales) de ácido ruménico (*cis-9 trans-11 CLA*), de ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) y de ácidos grasos omega-3 de cadena larga (VLCFA n-3) de la grasa intramuscular de corderos lechales obtenidos a partir de ovejas suplementadas en la dieta con un 3% de distintas fuentes de grasa (Control: sin grasa añadida; PALM: aceite de palma hidrogenado; OLI: aceite de oliva; SOY: aceite de soja; LIN: aceite de lino; ELS: Semilla extrusionada de lino; FISH: Jabón cálcico de aceite de pescado). (Manso *et al.*, 2011; Gómez-Cortés *et al.*, 2014; Gallardo *et al.*, 2015).

Los aceites vegetales también han sido estudiados como alternativa para mejorar el perfil de ácidos grasos y aumentar los niveles de CLA y de ácidos grasos insaturados de la carne de corderos de cebo.

Tal y como se presenta en la Figura 4, a pesar de su alto contenido en ácido linoleico, un 3% de aceite de girasol en el pienso de corderos no mejoró los niveles de ácido ruménico (*cis*-9, *trans*-11 CLA) en la carne, sin embargo, incrementó los niveles de ácidos grasos *trans* (Manso *et al.*, 2009). Por otra parte, aunque las diferencias en la relación saturados/insaturados no fueron significativas, la grasa intramuscular de los corderos que recibieron aceite de girasol presentó un menor índice de aterogenicidad que la grasa de corderos alimentados sin grasa añadida o con aceite de palma hidrogenado. Algunos autores Bessa *et al.* (2005) también han señalado aumentos en la proporción de determinados ácidos grasos asociados con efectos negativos sobre la salud humana (*trans*-10 C18:1) en la carne cuando se suministran aceites en raciones con baja relación forraje:concentrado. Por lo tanto, este debe ser un aspecto a tener en cuenta a la hora de realizar recomendaciones sobre la utilización de aceites en raciones de cebo de corderos. Similares resultados han sido encontrados al emplear aceite de soja y linaza en raciones de corderos (Francisco *et al.*, 2015).

El empleo de aceites y semillas ricas en PUFA n-3, tales como el aceite de linaza, la semilla extrusionada de lino o la semilla de chía en cebo de corderos han demostrado ser eficaces para incrementar los niveles de PUFA n-3 en la carne, lo cual resulta favorable desde el punto de vista de la salud humana, a pesar de que el nivel de *cis*-9 *trans*-11 CLA no se vea modificado (Urrutia *et al.*, 2015). Asimismo, el empleo de aceites de pescado parece ser la vía más efectiva para incrementar los niveles de EPA y DHA en el músculo de los corderos (Raes *et al.*, 2004).

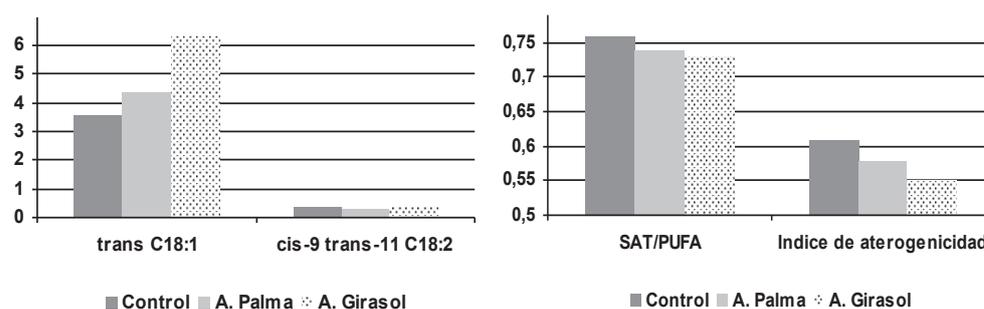


Figura 4. Efecto de un 3% de aceite de girasol sobre el contenido (% de ácidos grasos totales) de ácidos grasos *trans* C18:1 y *cis*-9 *trans*-11 CLA de la grasa intramuscular de corderos durante el periodo de crecimiento cebo (Manso *et al.*, 2009).

Nivel y tipo de forraje

La alimentación en pastoreo de las ovejas genera corderos lactantes con una grasa menos saturada y con mayores niveles de RA, VA y PUFA n-3, así como una relación n6/n3 más favorable, que cuando los

corderos proceden de madres estabuladas y alimentadas con forrajes conservados y/o alta proporción de concentrados (Scerra *et al.*, 2007; Joy *et al.*, 2012).

En corderos destetados y alimentados a base de pastos y forrajes, y debido a que la hierba posee un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados y de la serie n-3, la carne presenta mayores concentraciones de RA y un perfil de ácidos grasos más saludable (Raes *et al.*, 2004). Sin embargo, cuando los corderos son cebados de forma intensiva a base de concentrados y paja de cereales *ad libitum*, como es el caso de la mayoría de los corderos que se ceban en España, los niveles de RA y otros ácidos grasos poliinsaturados PUFA n-3 son más limitados.

EMPLEO DE ORUJO DE UVA EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO OVINO

El aumento en el grado de insaturación de la grasa, la hace también más susceptible a la oxidación y, por tanto, con vida útil más corta. Una de las estrategias más comúnmente utilizada para prevenir la oxidación lipídica de la carne es la utilización de antioxidantes en las raciones. En muchas ocasiones se utilizan antioxidantes de síntesis, cuyo uso está bastante restringido en algunos países debido a sus efectos tóxicos y carcinogénicos, por ello, el desarrollo de antioxidantes de origen natural, entre los que se encuentran los compuestos fenólicos ha despertado un gran interés.

En la alimentación de los rumiantes en general, y del ganado ovino en particular, es muy habitual utilizar subproductos de la industria agroalimentaria, ya que esto permite, no solo aprovechar subproductos que de otra manera serían únicamente residuos, sino también reducir el coste de la ración y/o proporcionar sustancias bioactivas con efectos beneficiosos sobre la calidad de los productos y la salud de los consumidores.

El orujo de uva es un subproducto de la elaboración del vino que presenta una gran riqueza en compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante, por ello, se ha planteado como alternativa de alimentación interesante con bajo coste para incrementar, además de la estabilidad oxidativa de los productos, el contenido en ácidos grasos funcionales de la grasa de pequeños rumiantes.

En este sentido, algunos autores han relacionado la ingestión de polifenoles y taninos condensados con cambios en la flora bacteriana implicada en los procesos biohidrogenación ruminal, provocando la inhibición de la conversión de VA a ácido esteárico y favoreciendo

la acumulación de VA a nivel ruminal. Por otra parte, la enzima Δ^9 -desaturasa también puede verse influenciada por la presencia de algunos polifenoles, favoreciendo la síntesis endógena de RA a partir de VA en los tejidos animales (Vasta *et al.*, 2009). Como consecuencia, el empleo de polifenoles en general, y de orujo de uva en particular, se está planteando, además de por su efecto antioxidante, como estrategia para la mejora de la calidad de la grasa de la leche y de la carne.

Así, en un trabajo reciente realizado por nuestro grupo de investigación (Guerra-Rivas *et al.*, 2015a) con ovejas en inicio de lactación en el que suministramos a las ovejas dos niveles de orujo de uva (5% y 10% de la materia seca de la ración) y lo comparamos con el antioxidante habitualmente utilizado (vitamina E), pudimos observar que el contenido en CLA y VA de la grasa intramuscular fue superior en aquellos corderos cuyas madres ingirieron orujo de uva, lo que podría corroborar el efecto de los polifenoles del orujo de uva sobre los procesos de biohidrogenación de las grasas.

En otra prueba experimental (Guerra-Rivas *et al.*, 2013), y de igual modo, al incorporar un 5% de orujo de uva en piensos de cebo de corderos, y aunque los efectos de los tratamientos fueron mínimos, también detectamos una tendencia a un mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados en la carne de los corderos que recibieron orujo de uva.

El alto grado de insaturación de la grasa del orujo de uva, con un nivel de ácido linoleico mayor al 60%, así como el efecto inhibitorio de algunos de sus compuestos fenólicos sobre los procesos de biohidrogenación a nivel ruminal y sus interacciones con la población microbiana y con las enzimas desaturasas que intervienen en los procesos de biohidrogenación ruminal podrían explicar estos resultados.

Algunos autores al emplear diferentes extractos vegetales han observado correlaciones lineales y positivas entre el contenido en compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante (Zheng y Wang, 2001). Además, se ha podido comprobar que la suplementación de la dieta con sustancias de naturaleza fenólica mejora la estabilidad del color de la carne a lo largo de su almacenamiento (Vasta y Luciano, 2011). En este sentido, el alto contenido en compuestos fenólicos de los residuos de vinificación podría resultar interesante como fuente de antioxidantes en las raciones de ganado ovino.

Así, al incorporar orujo de uva en la ración de ovejas lactantes a niveles de 5 y el 10% de la materia seca, y tal y como se presenta en la Figura 5, encontramos que el contenido en malondialdehído (MDA), indicador del grado de oxidación de la carne, aumentó con el tiempo de

refrigeración y que el nivel de MDA tendió a ser inferior a partir del día 3 de almacenamiento en la carne de los corderos lechales cuyas madres recibieron orujo de uva en la ración mostrando un efecto similar al ejercido por la vitamina E.

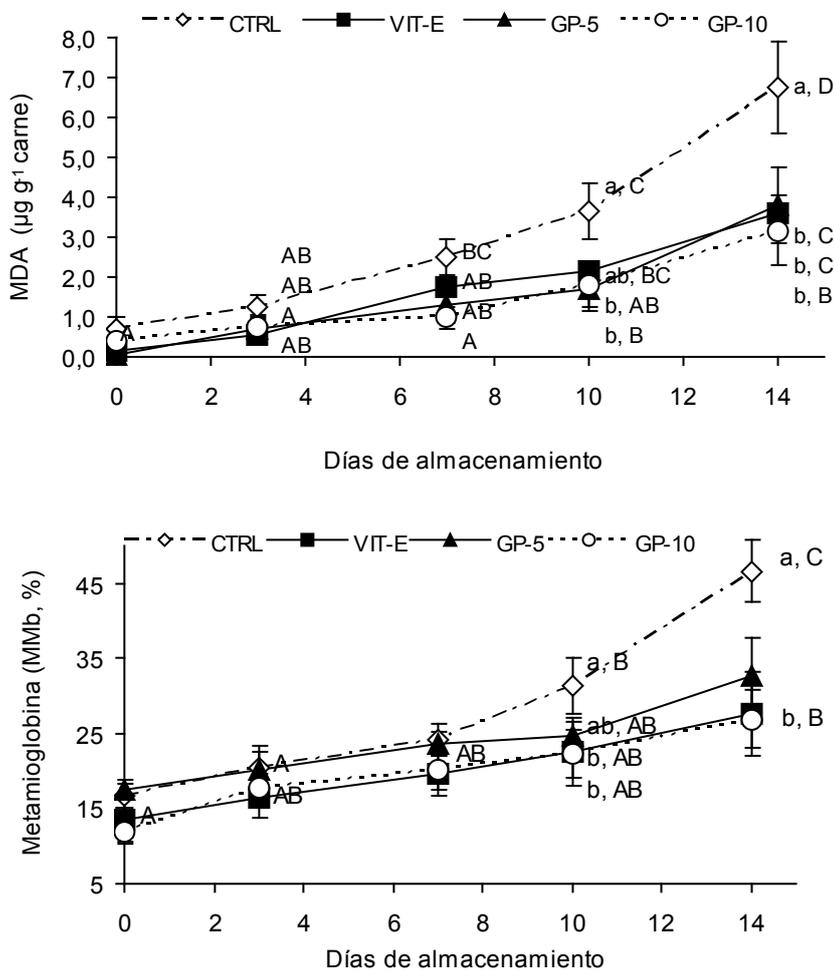


Figura 5. Efecto de un 5% (GP-5) y de un 10% (GP-10) de orujo de uva en la ración de ovejas en lactación sobre los niveles de malondialdehído (MDA) en la carne de corderos lechales en relación con ovejas que no fueron suplementadas (Control) o que fueron suplementadas con 500 mg de vitamina E (VIT-E). Letras minúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) y letras mayúsculas entre días de almacenamiento (Guerra-Rivas *et al.*, 2015b).

Aunque los parámetros de color no mostraron grandes diferencias debidas al tratamiento experimental, los niveles de MDA estuvieron correlacionados positivamente con los niveles de metamioglobina y los resultados encontrados en la carne de corderos lactantes parecen indicar una posible transferencia de los polifenoles del orujo de uva a la leche. Tendencias similares hemos encontrado al incorporar un 5% de orujo de uva en otras pruebas con piensos de corderos durante el periodo de crecimiento-cebo.

CONCLUSIONES

El tipo de grasa y de forraje de las raciones de ganado ovino son los factores más importantes a tener en cuenta si se quiere producir leche y carne de cordero y de lechazo con un perfil de ácidos grasos adaptado a las demandas de los consumidores desde el punto de vista de la salud humana. Asimismo, el empleo de subproductos agroindustriales, como el orujo de uva, y como consecuencia de su riqueza en polifenoles podría ser una estrategia sostenible y económica para aumentar el ácido vacénico y el CLA en la leche, así como para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne de cordero. Sin embargo, mayor investigación es necesaria para poder establecer con precisión el nivel más adecuado de orujo en las raciones del ganado ovino durante las distintas fases del periodo productivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abughazaleh, A.A., Jenkins, T.C. (2004). Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 87, 645-651.
- Bauman, D.E., Perfield, J.W., de Veth, M.J., Lock, A.L. (2003). New Perspectives on Lipid Digestion and Metabolism in Ruminants. In: *Proceedings of the Cornell Nutritional Conference*, pp. 175-189, Cornell University, Ithaca, NY.
- Bessa, R.J.B., Portugal, P.V., Mendes, I.A., Santos-Silva, J. (2009). Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science*, 96, 185-194.
- Bodas, R., Manso, T., Mantecón, A.R., Juárez, M., De La Fuente, M.A., Gómez-Cortés, P. (2010). Comparison of the fatty acid profiles in cheeses from ewes fed diets supplemented with different plant oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10493-10502.
- de Renobales, M., Amores, G., Arranz, J., Virto, M., Barrón, L.J.R., Bustamante, M.A., Ruiz de Gordo, J.C., Nájera, A.I., Valdivielso, I., Abilleira, E., Beltrán de Heredia, I., Pérez-Elortondo, F.J., Ruiz, R., Albisu, M., Mandaluniz, N. (2012). Part-time grazing improves sheep milk production and its nutritional characteristics. *Food Chemistry*, 130, 90-96.
- Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., Glasser, F. (2009). Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. *Lipids*, 44, 53-62.
- Francisco, A., Dentinho, M.T., Alves, S.P., Portugal, P.V., Fernandes, F., Sengo, S., Jerónimo, E., Oliveira, M.A., Costa, P., Sequeira, A., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J. (2015). Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. *Meat Science*, 100, 275-282.
- Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., Manso, T., de la Fuente, M.A. (2014). Effects of olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty-acid profiles of suckling lambs animal. *Animal*, 8, 1178-1190.

- Gómez-Cortés, P., Gallardo, B., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Manso, T. (2013). Effects of different sources of fat (calcium soap of palm oil *vs.* extruded linseed) in lactating ewes' diet on the fatty acid profile of their suckling lambs. *Meat Science*, *96*, 1304-13012.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Vol. 1. Editores: M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, and G. J. Nelson, ed. AOCS Press, Champaign, IL. pp. 180-200.
- Guerra-Rivas, C., Gallardo, B., Lavín, P., Mantecón, A.R., Vieira, C., Manso, T. (2015a). Los niveles de ácido ruménico y ácido vacénico de la grasa intramuscular de los lechazos aumentan al incorporar orujo de uva en la ración de las ovejas. En: *XVI Jornadas sobre Producción Animal*, Edita: Asociación Interprofesional para el desarrollo agrario. Tomo I, 678-680.
- Guerra-Rivas, C., Lavín, P., Gallardo, B., Mantecón, A.R., Vieira, C., Manso, T. (2013). Grape pomace and grape seed extract in lambs diet: meat fatty acid profile and antioxidant activity. In: *Book of abstract of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science* (EAAP, 2013). Ed. Wageningen Academic Publishers (Holland). pp.379.
- Guerra-Rivas, C., Vieira, C., Gallardo, B., Mantecón, A.R., Lavín, P., Manso, T. (2015b). La estabilidad oxidativa de la carne de lechazo se incrementa a lo largo de su almacenamiento al incorporar orujo de uva en la ración de las ovejas. En: *XVI Jornadas sobre Producción Animal*, Edita: Asociación Interprofesional para el desarrollo agrario. Tomo I, 681-683.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., Álvarez-Rodríguez, J. (2012). Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and post-partum periods on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science*, *90*, 775-782.
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D. (2001). Utilisation of fish oil in ruminants. II *Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk*. *Animal Feed Science and Technology*, *89*, 201-208.
- Lock, A.L., Bauman, D.E. (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, *39*, 1197-1206.
- Makris, D.P., Boskou, G., Andrikopoulos, N.K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*, 125-132.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R., Castro, T. (2011). Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal*, *5*, 1659-1667.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecón, A.R. (2009). Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science*, *83*, 511-516.
- Nieto, G; Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. *Meat Science*, *84*, 23-29.
- Nudda, A., Battacone, G., Boaventura, O, Cannas, A., Dias Francesconi, A., Atzori, A.E., Pulina, G. (2014). Feeding strategies to desing the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *Revista brasileira de zootecnia*, *43*, 445-456.
- Nudda, A., Mcguire, M.A., Battacone, G., Pulina, G. (2005). Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *Journal of Dairy Science*, *88*, 1311-1319.

- Parodi, P.W. (2009). Has the association between saturated fatty acids, serum cholesterol and coronary heart disease been over emphasized?. *International Dairy Journal*, 19, 345-361.
- Piperova, L.S., Sampugna, J., Teter, B.B., Kalscheur, K.F., Yurawecz, M.P., Ku, Y., Morehouse, K.M., Erdman, R.A. (2002). Duodenal and milk *trans* octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating dairy cows. *Journal of Nutrition*, 132, 1235-1241.
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199-221.
- Reynolds, C.K.; Cannon, V.L., Loerch, S.C. (2006). Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 333-357.
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Galofaro, V., Sinatra, M.C., Scerra, V. (2007). Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs. *Meat Science*, 76, 390-394. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.033>
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y. (2010). Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 4, 1140-1166.
- Shingfield, K.J., Chilliard, Y., Toivonen, V., Kairenius, P., Givens, D.I. (2008). *Trans* fatty acid and bioactive lipids in ruminant milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 3-65.
- Spanghero, M., Salem, A.M.Z., Robinson, P.H. (2009). Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science and Technology*, 152, 243-255.
- Toral, P.G., Frutos, P., Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., (2010). Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 93, 1604-1615.
- Urrutia, O., Soret, B., Insausti, K., Mendizabal, J.A., Purroy, A., Arana, A. (2015). The effects of linseed or chia seed dietary supplementation on adipose tissue development, fatty acid composition, and lipogenic gene expression in lambs. *Small Ruminant Research*, 123, 204-211.
- Vasta, V., Luciano, G. (2011) The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101, 150-159.
- Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., Priolo, A. (2008). Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. Review. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 223-246.
- Vasta, V., Priolo, A., Scerra, M., Hallett, K.G., Wood, J.D., Doran, O. (2009). Δ^9 desaturase protein expression and fatty acid composition of *longissimus dorsi* muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. *Meat Science*, 82, 357-364.
- Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Hallett, K., Enser, M. Wood, J.D. (2000). Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 135, 419-428.
- Zheng, W., Wang, S.Y. (2011). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5165-5170.

MODIFYING MILK AND MEAT CHARACTERISTICS THROUGH FEED CHANGES

ABSTRACT

Feeding is a major factor affecting the quality of sheep products (milk and meat). The feeding strategies useful to increase the levels of healthy fatty acids (FA), such as conjugated linoleic acid and omega-3 FA, in milk and meat in the human diet are reported. The addition of supplements rich in oils and the level and quality of forage seem valuable tools to influence the fatty acid composition of milk and lambs meat. In addition, the use of alternative feed resources such as grape pomace rich in phenolic compounds in the sheep and lamb diets and their effects on meat FA composition and oxidative stability are also discussed.

Key words: sheep, milk, meat, fatty acids.

PARIDA, S.*; MUNIRAJU, M. y MAHAPATRA, M.

The Pirbright Institute, Ash Road, Woking, Surrey, GU24 0NF, UK

*satya.parida@pirbright.ac.uk

ABSTRACT

PPR is an important infectious viral disease of domestic and wild small ruminants, that threatens the food security and sustainable livelihood of farmers across Africa, the Middle East and Asia. Europe is free of the disease except Thrace (European part of Turkey) and Israel. Following the successful eradication of RPV, PPR has been targeted by the OIE and FAO as the next viral pathogen to be eradicated by 2030. However, the recent outbreaks in Northern Africa and Thrace (European part of Turkey) are great threats to mainland of Europe, as a source of disease spread. We have discussed here the emergence of PPR worldwide since the disease is known, in particular reference to recent outbreaks in Northern Africa and Thrace and their probable threats to Europe for spreading the disease.

Key words: PPR, emergence of PPR, threat of PPR to Europe.

INTRODUCTION

Peste des petits ruminants (PPR) is also known as ‘goat plague’, ‘Kata’, ‘syndrome of stomatitis-pneumoenteritis’ or ‘ovine rinderpest’. PPR is an important infectious viral disease of domestic and wild small ruminants that threatens the food security and sustainable livelihood of farmers across Africa, the Middle East and Asia (Banyard *et al.*, 2010; Libeau *et al.*, 2014; Parida *et al.*, 2015). PPR is emerging in new regions of the world and is causing great economic losses (Perry *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2014; Banyard *et al.*, 2014). The causative agent, peste des petits ruminants virus (PPRV) belongs to the family *Paramyxoviridae*, genus *Morbillivirus* under order *Mononegavirales* alongside other important viral pathogens such as rinderpest virus (RPV), measles virus (MV) and canine distemper virus (CDV) (Figure 1). The incubation period of the PPR is typically 4 to 6 days although it may range between 3 and 10 days. At

the acute stage of disease, animals show pyrexia up to 41°C lasting for 3 to 5 days, depression, anorexia and dryness in the muzzle. Watery nasal and lachrymal discharges gradually become mucopurulent with excessive salivation. Erosive lesions formed in the oral cavity may become necrotic. In the later stage of infection, animals develop diarrhoea, coughing with laboured abdominal breathing. The disease condition may last for 14 days before recovery from infection or leads to death during the acute stage of infection. The morbidity rate can reach 100% with a high case fatality with the acute form of disease. The above described clinical signs and mortality can vary considerably depending on the virulence of virus (OIE, 2012).

The viral genome for all members of the *Mononegavirales* consists of a single-strand of non-segmented negative-sense RNA encapsidated by N as a helical nucleocapsid. The N-RNA complex, along with the RNA-dependent RNA polymerase (RdRP, large polymerase; L) and the co-factor phosphoprotein (P) forms a complex as ribonucleoprotein (RNP) complex. RNPs are contained within the virus envelope and appear as helical structures with a 'herring-bone' appearance. During the viral budding process, the viral envelope is derived from the infected cell membrane and is embedded with protruding viral fusion (F) and H glycoproteins (Figure 2). The matrix (M) protein is located on the inner surface of the envelope and bridges the RNPs and cytoplasmic tails of the membrane glycoproteins. Structurally, the morbilliviruses are pleomorphic (200-700 nm) enveloped particles as determined using negative-stain electron microscopy (EM) (Plowright *et al.*, 1962). Following the successful eradication of RPV, PPR has been targeted by the OIE and FAO as the next viral pathogen to be eradicated by 2030 (FAO, 2014).

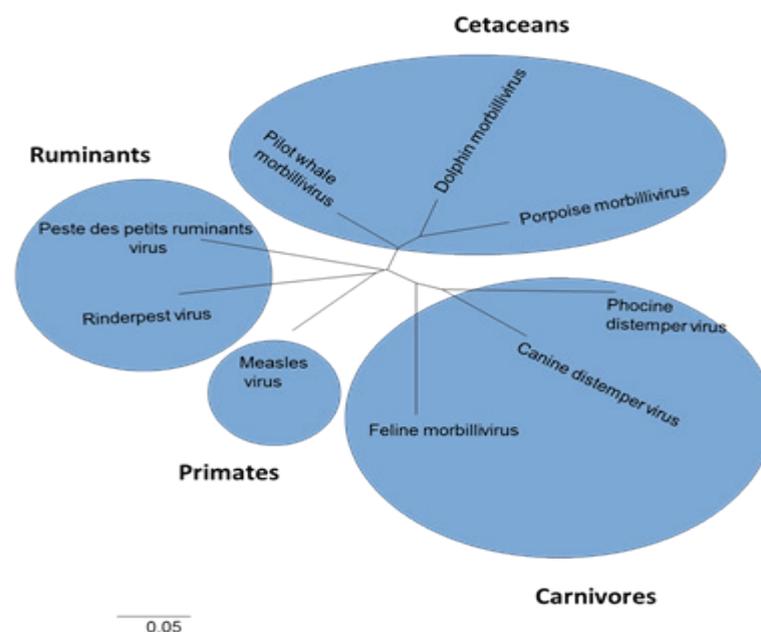


Figure 1. Un-rooted neighbour-joining tree showing the relationships between the different morbilliviruses.

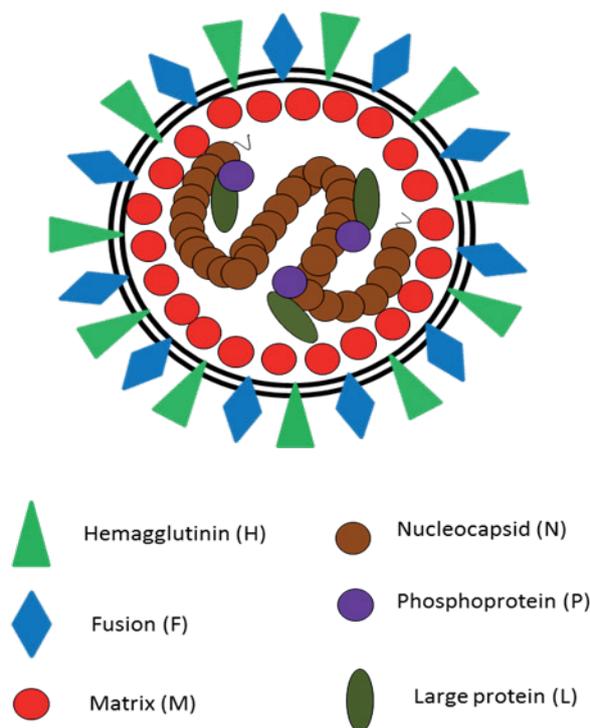


Figure 2. A schematic diagram of the PPR virion structure. The PPRV glycoproteins (F and H proteins) are embedded within the viral envelope. The M protein lines the inner surface of virus envelope. The ribonucleoprotein complex is composed of N, P and L proteins in association with the RNA genome.

Emergence of PPR and its current distribution

The first report of PPR was made in 1942 in the Ivory Coast (Gargadennec and Lalanne, 1942) based on the observation that a disease of small ruminants was not transmissible to in-contact cattle. After three decades, the causative agent of PPR disease was defined as a distinct viral entity (Gibbs *et al.*, 1979). Before 1942, it is likely that PPR would have been confused with rinderpest as they show similar clinical symptoms and several reports of epidemic rinderpest-like disease in small-ruminants in Senegal and French Guinea were published between 1871 and 1927 (Diallo, 1988). Contrastingly, infections of rinderpest with an absence of clinical disease in sheep and goats are well documented in the same regions of Africa (Rossiter *et al.*, 1983). The evolution of PPRV and its relationship with RPV has been dissected out recently using molecular phylogenetic analysis of virus genome sequence data.

After the first recognition of PPR in Ivory Coast increased awareness led to further reports in neighbouring countries in the order, Senegal, Chad, Togo, Benin, Ghana, Nigeria, Oman, Sudan, Saudi Arabia, India, Jordan, Israel, Ethiopia, Kenya, Uganda and Pakistan (Sen *et al.*, 2010). This appears to be the geographic spread of disease from West Africa to East

Africa, and then to the Middle East and Asia. PPRV is considered to be endemic across Africa, the Middle East and Asia (Banyard *et al.*, 2010; Dhar *et al.*, 2002; Kwiatek *et al.*, 2011).

In recent years PPRV has extended its boundaries southwards in Africa as far as southern Tanzania (2008) and the Democratic Republic of Congo and Angola (2012). PPR outbreaks have also been reported across North Africa including within Tunisia (2006), Morocco (2008) and Algeria (2011). Alongside this, within Europe, Turkey reported approximately twenty laboratory confirmed PPR outbreaks in sheep and goats during 2011-2012. In southwest Asia, the virus spread to Tibet (2007) and has recently been reported all over China (2013-2014) (FAO, 2013).

PPRV exists as a single serotype but at the genetic level four distinct lineages exist. This lineage differentiation is based on partial genome sequence of either N or F genes (Couacy-Hymann *et al.*, 2002; Forsyth and Barrett, 1995). Historically, lineages I-III were found in Africa and numbered according to apparent spread of virus from West Africa (I and II) to East Africa (III). Lineage IV was mainly restricted to the Middle East and Asia with a few exceptions of Lineage III in Yemen and Oman and mixed lineages of III and IV in UAE and Qatar. However, lineage IV has now established its presence all across the PPR endemic areas with frequent outbreaks in Africa (Kwiatek *et al.*, 2011). PPRV lineages circulating in Africa (Table 1) and the Middle East and Asia (Table 2) are shown in Figure 3.

Table 1. Lineages of PPRV circulating in different countries of Africa, based on partial N/F gene sequence analysis (taken from Parida *et al.*, 2015).

Country	Year of first report	Lineage	Year of confirmation of outbreak through sequencing	NCBI submission
Algeria	2010	IV	2010	Yes
Angola	2012	IV	2012	No
Benin	1972	NA	NA	No
Burkina Faso	NA	I	1988	Yes
		II	1999	No
Cameroon	NA	IV	1997	Yes
Central African Republic	NA	IV	2004	Yes
Chad	1971	II	1993	No
Comoros	2010	NA	NA	No
Congo	NA	IV	2006	No

Country	Year of first report	Lineage	Year of confirmation of outbreak through sequencing	NCBI submission
Democratic Republic of the Congo	2012	IV	2012	No
Egypt	1987	IV	2009, 2010, 2012	Yes
Eritrea	NA	IV	2002, 2003, 2005, 2011	Yes
Ethiopia	1994	III	1994, 1996	Yes
		IV	2010	Yes
Gabon	NA	IV	2011	Yes
Ghana	NA	II	1976, 1978, 2010	Yes
Guinea	NA	I	1988, 1991	Yes
Guinea Bissau	NA	I	1989	Yes
Ivory Coast	1942	I	1989	Yes
Kenya	2006	III	2006	Yes
Libya	NA	NA	NA	No
Mali	NA	II	1999	Yes
Mauritania	NA	II	2012	Yes
Morocco	2008	IV	2008	Yes
Niger	NA	II	2012	No
Nigeria	1967	II	1975, 1976, 2010, 2012, 2013	Yes
		IV	2008, 2009, 2010, 2012, 2013	Yes
Senegal	1955	I	1964, 1994	Yes
		II	2010, 2013	Yes
Sierra Leone	2008	II	2009	Yes
Somalia	2006	III	NA	No
Sudan	1971	III	1971, 1972, 2000	Yes
		IV	2000, 2005, 2008, 2009	Yes
Tanzania	2008	III	2010, 2011, 2013	Yes
Togo	1972	NA	NA	No
Tunisia	NA	IV	2012, 2013	Yes
Uganda	1995	III	2007	No
		IV	2007, 2008	Yes
Western Sahara	NA	IV	2010	No

**Lineages of isolates of PPRV were named by following the classification of lineages based on partial N gene sequence phylogenetic analysis; NA, not available.*

Table 2. Lineages of PPRV circulating in different countries of the Middle East and Asia, based on partial N/F gene sequence analysis (taken from Parida *et al.*, 2015).

Country	Year of first report	Lineage*	Year of confirmation of PPR outbreak through sequencing	NCBI submission
Turkey	1996	IV	1996,2000,2006,2007,2008,2009,2010,2011	Yes
Iraq	1998	IV	2011, 2012, 2013	Yes
Iran	1995	IV	1998,2010,2011,2012	Yes
Saudi Arabia	1980	IV	1999, 2004	Yes
Israel	1993	IV	1993, 1995,1998,	Yes
Jordan	NA	IV	NA	No
Kuwait	1999	IV	1999	No
Oman	1978	III	1983, 1987	Yes
Yemen	2002	III	2001, 2009	No
Qatar	NA	III	2010	Yes
		IV	2010	Yes
UAE	1983	III	1986	Yes
		IV	NA	No
Lebanon	2006	NA	NA	No
Afghanistan	1995	NA	NA	No
Kazakhstan	1997	NA	NA	No
Tajikistan	2004	NA	2004	Yes
India	1987	IV	1994,1995,1996,1998,1999,2004,2002,2001,2003,2005,2007,2008,2012	Yes
Pakistan	1991	IV	1994,2005,2006,2007,2008,2009,2010,2012,	Yes
Bangladesh	1993	IV	2000,2008, 2009, 2010,2011,2012	Yes
Nepal	1995	IV	1995,2009	Yes
China	2007	IV	2007,2008, 2014	Yes
Bhutan	2010	IV	2010	Yes
Vietnam	2007	Serology	NA	No

* Lineages of isolates of PPRV were named by following the classification of lineages based on partial N gene sequence phylogenetic analysis; NA, not available.

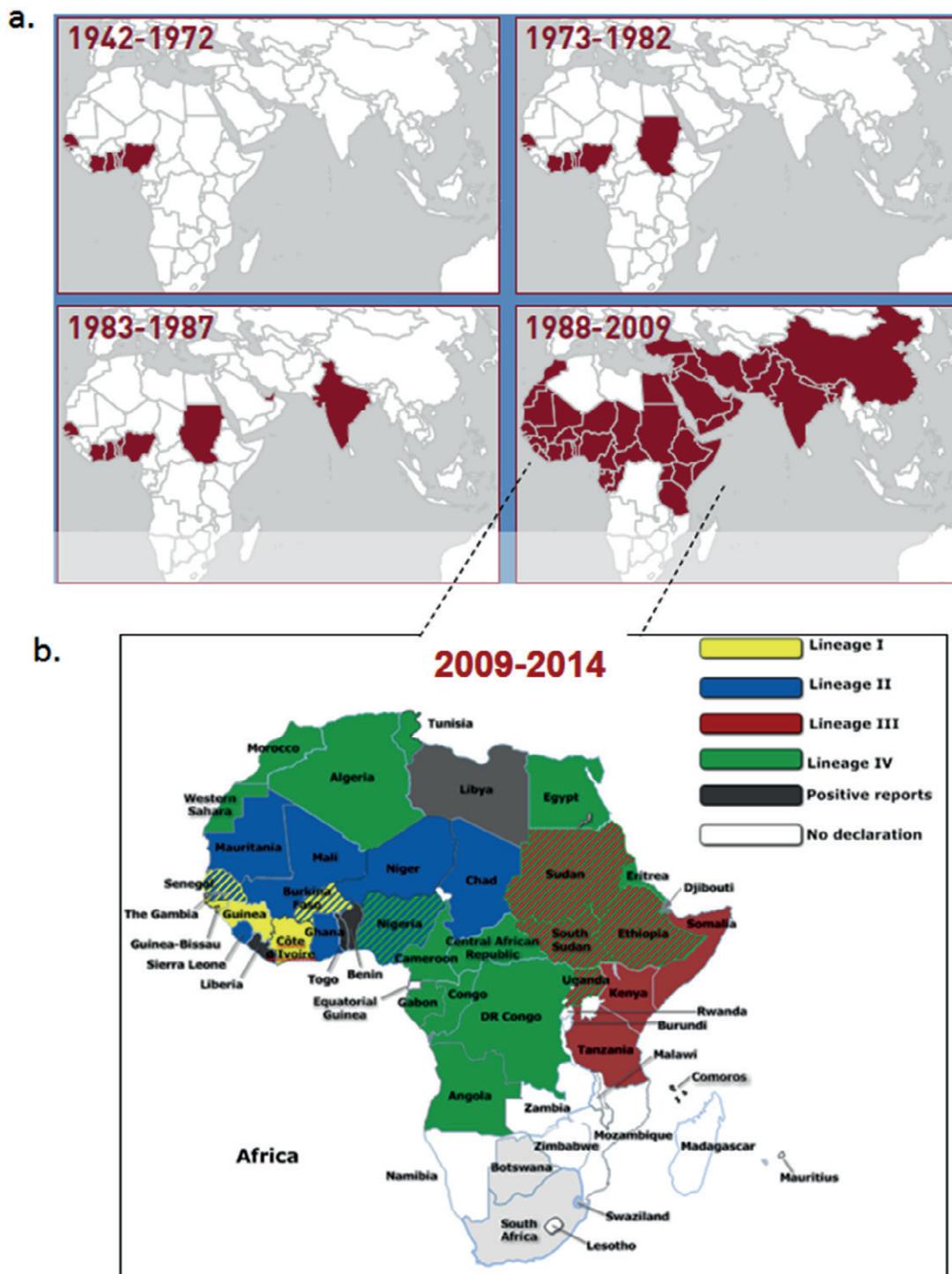


Figure 3. The global spread of PPRV from its first detection in 1942 to 2014. **Figure 3a** depicts global distribution of PPRV from 1942 to 2009, taken from (FAO, 2009) and **Figure 3b** depicts recent circulations of PPRV including lineage distribution in Africa and was drawn using smart draw software (USA) cited from Parida *et al.*, 2015.

The current molecular epidemiology of PPRV is based on sequence comparison of a small region of the F gene (322 nt) or the N gene (255 nt) and has identified 4 distinct lineages (I–IV) of PPRV (Banyard *et al.*,

2010). However, this analysis has not generated much information on the evolution and dispersal of each of the PPRV lineages. Many aspects of PPRV evolution, such as the origin of an ancestral virus, divergence and time of origin, and the historical and geographic patterns of spread, are poorly understood (Libeau *et al.*, 2014). A better understanding of the evolution of PPRV would enable the prediction of how these viruses will lead to further outbreaks and epidemics and provide data for control strategies including application of vaccines.

Molecular evolutionary rate and divergence times for PPRV were co-estimated by constructing Bayesian maximum clade credibility (MCC) phylogenetic tree by using Bayesian Markov Chain Monte Carlo (MCMC) analysis and Bayesian evolutionary analysis sampling trees (BEAST) (Muniraju *et al.*, 2014 and Parida *et al.*, 2015). Bayesian phylogeographic analysis was performed by using complete PPRV genome sequence and partial N gene sequence datasets available in the GenBank (Figure 4).

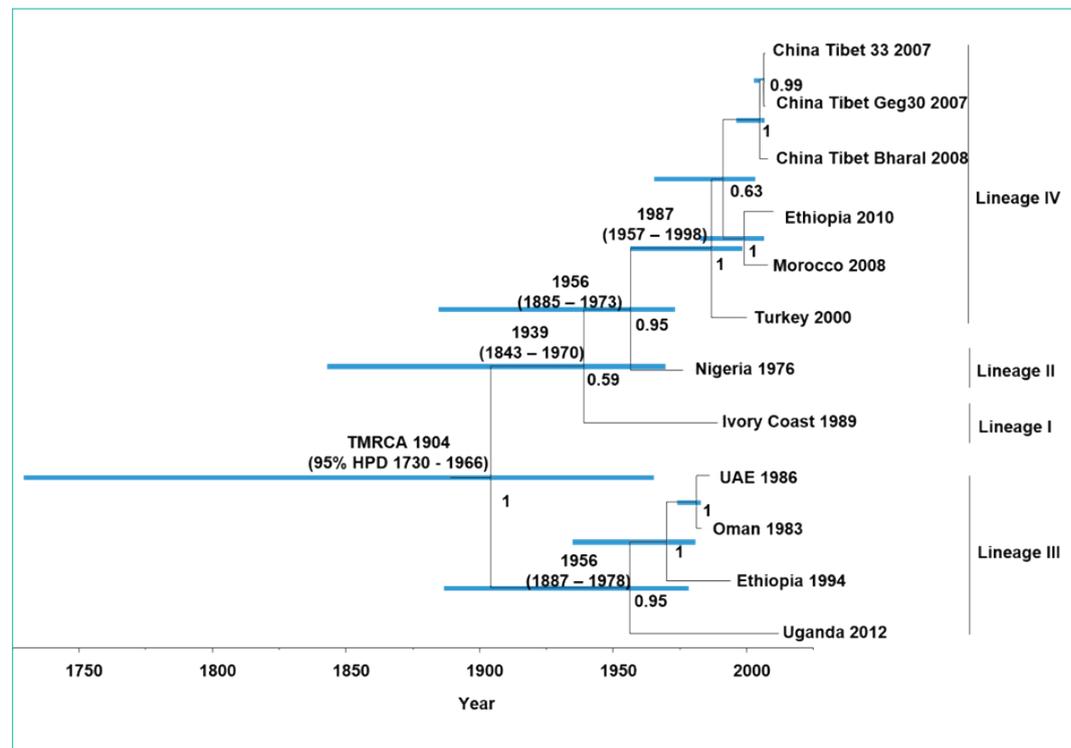


Figure 4. Time-scaled Bayesian maximum clade credibility phylogeny tree based on PPRV complete genome sequences. The tree was constructed by using the uncorrelated exponential distribution model and exponential tree prior. Branch tips correspond to the date of collection and branch lengths reflect elapsed time. Tree nodes were annotated with posterior probability values and estimated median dates of time to most recent common ancestor (TMRCA). Corresponding 95% highest posterior density (HPD) interval values of TMRCA are indicated as blue bars. Horizontal axis indicates time in years. UAE, United Arab Emirates. Cited from (Muniraju *et al.*, 2014).

The predicted TMRCA for PPRV was during the early 20th century is reasonable because the first recorded description of PPRV was made in 1942 (Gargadennec and Lalanne, 1942). The delay of a few decades before identification of PPRV as a distinct viral entity after its initial detection can likely be attributed to confusion in differentiation between PPRV and RPV, a virus for which extensive cross-neutralization is observed after vaccination and natural infection, and lack of differentiating diagnostic tools.

Potential divergence events for different PPRV lineages were inferred by using rooted, time-measured phylogenetic trees with higher confidence from the PPRV complete genome sequence dataset. The inferred phylogeny supports the initial divergence of lineage III isolates, followed by lineage I isolates; lineage II and IV isolates were predicted to have diverged from each other at a later time.

Phylogeographic reconstruction with spatial and temporal information of virus isolates has enabled an understanding of the historic emergence and dispersal patterns involved in virus evolution. Although PPRV existed earlier than its first description in Ivory Coast in 1942 (Diallo, 1988), PPRV was later reported in Senegal, Chad, Togo, Benin, Ghana, Nigeria, Oman, Sudan, Saudi Arabia, India, Jordan, Israel, Ethiopia, Kenya, Uganda, and Pakistan (Sen *et al.*, 2010). Our phylogeographic analysis indicated that Nigeria was the geographic origin of the most recent common ancestor of PPRV because of the highest root location state probability. Furthermore, geographic origins of the most recent common ancestor of PPRV lineages I, II, and III were predicted to be across Africa; lineage IV likely emerged in India. In conclusion, these findings suggest that the origin of PPRV was in western Africa, which then spread to eastern Africa, the Middle East, and Asia. However, although these predictions are suggestive of a potential origin for PPRV, caution must be exercised in their interpretation because estimates of geographic origin rely on available datasets, and these datasets need enhancing to provide greater confidence for phylogenetic assessment. As more sequence data become available for PPRV and the other morbilliviruses, ancestral origins of each virus and intraspecies differentiation might become clearer.

Transmission of disease and threat to Europe

Infected animals can transmit PPRV to close in-contact susceptible animals through exhaled aerosols, particularly during coughing, or through clinical excretions (lachrymal, nasal, saliva and faeces). Virus may move to far distant places through the movement of infected animals for trade or for migration purpose, particularly those animals incubating the disease without clinical manifestations. PPRV is temperature labile

and readily inactivated outside its host in a dry environment. Infected and recovered animals develop life-long protective immunity with no carrier state (Hamdy *et al.*, 1976). However, virus can spread in animals as a mild virulent form that can later lead to severe disease where transmission occurs to naive susceptible populations (Couacy-Hymann *et al.*, 2007a). There is possibility that the virus may be transmitted through fomites. Host factors like age, sex, breed and season may also play a role in disease outbreaks. Sheep and goats are the primary hosts for PPRV with a few reports of disease outbreaks in camels (Khalafalla *et al.*, 2010; Kwiatek *et al.*, 2011; Roger *et al.*, 2001; Saeed *et al.*, 2004). More frequent outbreaks have been reported in goats than in sheep populations suggesting that goats are more susceptible than sheep to an acute form of the disease (Lefevre and Diallo, 1990). Cattle (Anderson and McKay, 1994; Lembo *et al.*, 2013; Sen *et al.*, 2014), buffalo (Govindarajan *et al.*, 1997) and pigs (Nawathe and Taylor, 1979) develop subclinical infection with PPRV and are not thought to be capable of excreting virus and contributing to the disease epidemiology. PPRV infection in wildlife, mainly living under semi-free range conditions, has also been reported (detailed in Table 3), though the exact role of wildlife in the epidemiology of PPR disease remains to be clarified.

Table 3. Reported PPR infections in wildlife species (taken from Parida *et al.*, 2015).

Common name	Latin name	Mode of detection	Country	Reference
White-tailed deer	<i>Odocoileus virginianus</i>	Clinical	USA (experimental infection)	(Hamdy and Dardiri, 1976)
Laristan sheep	<i>Ovis gmelini</i>	Clinical	Al Ain , Arabian Gulf	(Furley <i>et al.</i> , 1987)
Gemsbok	<i>Oryx gazella</i>	Clinical	Al Ain , Arabian Gulf	(Furley <i>et al.</i> , 1987)
Dorcas gazelles	<i>Gazella dorcas</i>	Clinical	Al Ain , Arabian Gulf	(Furley <i>et al.</i> , 1987)
Nubian Ibex	<i>Capra nubiana</i>	Clinical	Al Ain , Arabian Gulf	(Furley <i>et al.</i> , 1987)
African Grey dukier	<i>Sylvicapra gramma</i>	Serology	Nigeria	(Ogunsanmi <i>et al.</i> , 2003)
Thompson's gazelle	<i>Eudorcas thomsonii</i>	Clinical	Saudi Arabia	(Al-Afaleq <i>et al.</i> , 2004)
Arabian oryx	<i>Oryx leukoryx</i>	Serology	Saudi Arabia and UAE	(Frolich <i>et al.</i> , 2005)
Bubal hartebeests	<i>Alcelaphus buselaphus</i>	Serology	Ivory Coast	(Couacy-Hymann <i>et al.</i> , 2005)
Buffaloes	<i>Syncerus caffer</i>	Serology	Ivory Coast	(Couacy-Hymann <i>et al.</i> , 2005)
Defassa waterbuck	<i>Kobus defassa</i>	Serology	Ivory Coast	(Couacy-Hymann <i>et al.</i> , 2005)

Common name	Latin name	Mode of detection	Country	Reference
Kobs	<i>Kobus kob</i>	Serology	Ivory Coast	(Couacy-Hymann <i>et al.</i> , 2005)
Arabian mountain gazelles	<i>Gazella gazella cora</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Springbuck	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Arabian gazelles	<i>Gazella gazelle</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Barbary sheep	<i>Ammotragus lervia</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Bushbucks	<i>Tragelaphus scriptus kinne</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Impala	<i>Aepyceros melampus</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Rheem gazelles	<i>Gazella subgutturosa marica</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Afghan Markhor goat	<i>Capra falconeri</i>	Clinical, serology and genome	UAE	(Kinne <i>et al.</i> , 2010)
Persian gazelle	<i>Gazella subgutturosa</i>	Serology	Turkey	(Albayrak and Gur, 2010)
Bharal	<i>Pseudois nayaur</i>	Clinical, serology and genome	China	(Bao <i>et al.</i> , 2011)
Sindh Ibex	<i>Capra aegagrus blythi</i>	Clinical, and serology	Pakistan	(Abubakar <i>et al.</i> , 2011)
Wild goat	<i>Capra aegagrus</i>	Clinical and serology	Kurdistan	(Hoffmann <i>et al.</i> , 2012)

Recent PPR outbreaks in many free countries and reoccurrence of PPR in countries which had experienced PPR earlier, were mainly caused either due to the introduction of new live sheep and goats or illegal movements of small ruminants. A good example of this route of transmission of outbreak is Angola where PPR outbreak was experienced for the first time in 2012 after importing sheep and goats from Democratic republic of Congo. In this situation the recent PPR outbreaks in North African countries (Morocco, Algeria, Mauritania and Tunisia) as well as PPR outbreaks in Marmara region of Turkey, particularly in European part of Turkey, could be threats for incursion of PPR into the mainland Europe. Morocco was free from PPR until 2008. It is believed that the disease was introduced through the movement of live infected animals due to intense trade in northern Morocco immediately before the EID al-Adha festival. Due to mass vaccination campaigns during 2009-2011, PPR outbreak was not seen till June 2015. A serosurveillance in young animals (less than 8 months age) in 2012 revealed no antibody prevalence against PPR virus and therefore, it is believed that PPR virus circulation had ceased.

The cause of recent outbreaks in Morocco is not known and believed to be due to transboundary movement of infected animals. Mauritania is endemic for PPR since 1980s (Le Jan *et al.*, 1987). PPR outbreaks in Mauritania in 2012 were shown to be caused by Lineage II PPRV, similar to the Senegal outbreak. The 2010 PPR outbreaks in Sahrawi Territories of Algeria were caused by Lineage IV (De Nardi *et al.*, 2012). The most recent reported outbreaks were seen in Ghardaia province of Algeria during 2013 (Kardjadj *et al.*, 2015), indicating continuous circulation of PPRV in Algeria. Southern desert areas bordering Sahel countries favour the movement of infected animals for the spread of PPR in Algeria. In Tunisia first serological evidences were reported in 2006 (Ayari-Fakhfakh *et al.*, 2011) and the clinical cases were reported in 2012 and 2013 (Soufien *et al.*, 2014). The southern border of Tunisia is believed to be responsible for the uncontrolled introduction of PPR infected animals.

Although seroprevalance against PPR virus was seen earlier, the first clinical outbreak in Southeastern Anatolia, Eastern Anatolia and Mediterranean region of Turkey was reported in 1999. Due to the movement of live animals, the disease spread to other parts of the country very quickly. In Thrace, PPRV infection was reported in Istanbul for the first time in 2000 and Istanbul was followed by Edirne (Greece bordering) in 2004 and Kırklareli (Bulgaria bordering) in 2006. Since then outbreaks are clearly reported in Kırklareli in each year except 2009 and 2014. There were a total of 12 outbreaks recorded in Thrace region during 2011 and 3 during 2012. During 2013 only one outbreak was reported in Kırklareli in Thrace region. These events are big threats to Europe for the incursion of PPR. In addition to the illegal movement of infected animals or animal products, direct connectivity of this endemic region to mainland Europe is another route of (expected) transmission. Turkey hosts the same community of wild ruminants as Europe including, representatives from the Caprinae (wild goats, chamois) and Cervidae. Wild goats are of high interest as the ancestor of the domestic goats; Cervidae (roe deer, red deer) are of importance because they are the most widespread and abundant wild ruminants in Europe. These wild ruminants may play the role of bridge species for PPRV transmission between distant populations of infected and healthy domestic sheep and goat populations.

Importing live animals from countries having sheep and goat pox is forbidden. Therefore legal import of sheep and goats from North African countries and Turkey to Europe is not possible. However some movements of live sheep and goats were recorded in Eurostat and UN COMTRADE data base in 2011 that showed animal movement from

Turkey to Bulgaria and Hungary. A large number of sheep and goats used to be transferred within Turkey, particularly from southern and western Turkey that are endemic with PPR to free areas like Istanbul and Thrace. According to UN COMTRADE data base, the largest number of animal movement happens between East African countries and the Middle East. Although North African countries generally do not import live sheep and goats, an informal trade of animal movement through the borders is ongoing, which favours the spread of PPR. Although the movement of sheep and goats from these North African countries to Europe is forbidden, movement of live animals from Spain, France, Italy and Romania to Morocco, Algeria and Tunisia are registered, particularly towards the end of religious festivals like Ramadan and the month preceding Hajj. Therefore, there is a chance of PPR spread from North African countries to the European countries through fomites, specially through the returned trucks used to deliver live sheep and goats to the North African countries. Therefore proper cleaning and disinfection of vehicles transporting livestock are required before returning to European countries. Another threat of disease spread may occur through the uncontrolled movement of infected animal product, i. e. in the luggage of passengers as all luggage are not checked at the airports or other ports of entry. As the virus can survive for 2-3 days in meat, there is a possibility of transmission of the disease in the PPR free countries. Similarly, small ruminants may be smuggled in vehicles into Europe for domestic consumption. (Miller *et al.*, 2009). Illegal movement of infected animal product is also another potential threat for disease spread in PPR free countries when aimed for bioterrorism purposes.

CONCLUSIONS

Preventive measures employed in an uninfected area include the restriction of animal importation from disease-endemic regions. Disease can be efficiently controlled by isolating and slaughtering infected animals, disinfection of the premises and the quarantine of animals suspected of harbouring infection without showing clinical signs/symptoms. Prophylactic immunisation in suspected animal populations or areas is also recommended for the endemic countries. Immunisation is carried out with the availability of excellent live attenuated vaccines that elicit protective immunity and is maintained for at least three years (Diallo *et al.*, 2007; Sen *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2010). The major obstacle to PPR control in endemic countries is the requirement for frequent immunisations, at least every 3 years. Due to the high turnover of small ruminant populations, vaccination of younger animals (4 months old) is recommended (Balamurugan *et al.*, 2012b). Furthermore, the

disease spread to Europe or other PPR free countries could be reduced by campaigns raising awareness, training farmers and veterinary staffs to identify the the disease, to have a good knowledge of animal and animal product transport, designing surveillance at the border and being well prepared with a DIVA vaccine and companion diagnostic test as a control strategy in the worst case scenario.

REFERENCES

- Anderson, J., McKay, J. A. (1994). The detection of antibodies against peste des petits ruminants virus in cattle, sheep and goats and the possible implications to rinderpest control programmes. *Epidemiology and Infection*, 112, 225-231.
- Ayari-Fakhfakh, E., Ghram, A., Bouattour, A., Larbi, I., Gribâa-Dridi, L., Kwiatek, O., Bouloy, M., Libeau, G., Albina, E., Cêtre-Sossah, C. (2011). First serological investigation of peste-des-petits-ruminants and Rift Valley fever in Tunisia. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 187, 402-404.
- Balamurugan, V., Sen, A., Venkatesan, G., Rajak, K. K., Bhanuprakash, V., Singh, R. K. (2012b). Study on passive immunity: Time of vaccination in kids born to goats vaccinated against Peste des petits ruminants. *Virologica Sinica*, 27, 228-233.
- Banyard, A. C., Parida, S., Batten, C., Oura, C., Kwiatek, O. and Libeau, G. (2010). Global distribution of peste des petits ruminants virus and prospects for improved diagnosis and control. *Journal of General Virology*, 91, 2885-2897.
- Banyard, A.C., Wang, Z., Parida, S. (2014). Peste des Petits Ruminants Virus, Eastern Asia. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 2176-2178.
- Couacy-Hymann, E., Bodjo, C., Danho, T., Libeau, G., Diallo, A. (2007a). Evaluation of the virulence of some strains of peste-des-petits-ruminants virus (PPRV) in experimentally infected West African dwarf goats. *Veterinary Journal*, 173, 178-183.
- Dhar, P., Sreenivasa, B. P., Barrett, T., Corteyn, M., Singh, R. P., Bandyopadhyay, S. K. (2002). Recent epidemiology of peste des petits ruminants virus (PPRV). *Veterinary Microbiology*, 88, 153-159.
- De Nardi, M., Saleh, S.M.L., Batten, C., Oura, C., Di Nardo, A., Rossi, D. (2012). First Evidence of Peste des Petits Ruminants (PPR) Virus Circulation in Algeria (Sahrawi Territories): Outbreak Investigation and Virus Lineage Identification. *Transboundary and Emerging Diseases*, 59(3), 214-22.
- Diallo, A. (1988). Rinderpest and Peste-Des-Petits Ruminants - Constant Threats to Animal Farming in Many Developing-Countries. *Impact of Science on Society*, 38, 179-192.
- Diallo, A., Minet, C., Goff, C. L., Berhe, G., Albina, E., Libeau, G., Barrett, T., le Goff, C. (2007). The threat of peste des petits ruminants: progress in vaccine development for disease control. *Vaccine*, 25, 5591-5597.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2013). Supporting livelihoods and supporting livelihoods and Peste des petits ruminants (ppr) and small ruminant diseases control. <http://www.fao.org/docrep/017/aq236e/aq236e.pdf> (accessed on October 2014).
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2014). New programme to eradicate deadly livestock disease by 2030, EMPRES, http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/news_271014.html (accessed on October 2014).

- Gargadennec, L., Lalanne, A. (1942). La peste des petits ruminants Bulletin des Services Zoo Techniques et des Epizzoties de l'Afrique, *Occidentale Francaise*, 5, 16-21.
- Gibbs, E. P. J., Taylor, W. P., Lawman, M. J. P., Bryant, J. (1979). Classification of Peste Des Petits Ruminants Virus as the 4th Member of the Genus Morbillivirus. *Intervirology*, 11, 268-274.
- Govindarajan, R., Koteeswaran, A., Venugopalan, A. T., Shyam, G., Shaouna, S., Shaila, M. S., Ramachandran, S. (1997). Isolation of pestes des petits ruminants virus from an outbreak in Indian buffalo (*Bubalus bubalis*). *The Veterinary Record*, 141, 573-574.
- Hamdy, F. M., Dardiri, A. H., Nduaka, O., Breese, S. S., Jr., Ihemelandu, E. C. (1976). Etiology of the stomatitis pneumoenteritis complex in Nigerian dwarf goats. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 40, 276-284.
- Kardjadj, M., Ben-Mahdi, M.H., Luka, P.D. (2015). First serological and molecular evidence of PPRV occurrence in Ghardaïa district, center of Algeria. *Trop Anim Health Prod.*, (Published on-line 28th May 2015).
- Khalafalla, A. I., Saeed, I. K., Ali, Y. H., Abdurrahman, M. B., Kwiatek, O., Libeau, G., Abu Obeida, A., Abbas, Z. (2010). An outbreak of peste des petits ruminants (PPR) in camels in the Sudan. *Acta Tropica*, 116, 161-165.
- Kwiatek, O., Ali, Y. H., Saeed, I. K., Khalafalla, A. I., Mohamed, O. I., Abu Obeida, A., Abdelrahman, M. B., Osman, H. M., Taha, K. M., Abbas, Z., El Harrak, M., Lhor, Y., Diallo, A., Lancelot, R., Albina, E., Libeau, G. (2011). Asian Lineage of Peste des Petits Ruminants Virus, Africa. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 1223-1231.
- Lefevre, P. C., Diallo, A. (1990). Peste des petits ruminants. *Revue Scientifique et Technique*, 9, 935-981.
- Le Jan, C., Sow, A., Thiemoko, C., François, J., Diouara, A. (1987). Pneumopathies enzootiques des petits ruminants en Mauritanie: situation d'ensemble et approche expérimentale. *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux*, 40, 103-112.
- Lembo, T., Oura, C., Parida, S., Hoare, R., Frost, L., Fyumagwa, R., Kivaria, F., Chubwa, C., Kock, R., Cleaveland, S., Batten, C. (2013). Peste des Petits Ruminants Infection among Cattle and Wildlife in Northern Tanzania. *Emerging Infectious Diseases*, 19, 2037-2040.
- Libeau, G., Diallo, A., Parida, S. (2014). Evolutionary genetics underlying the spread of peste des petits ruminants virus. *Animal Frontiers*, 4, 14-20.
- Miller, M., Etter, E., Dufou, B., Libeau, G., Lancelot, R. (2009). Analyse qualitative du risque d'introduction de la peste des petits ruminants en France. *Epidémiol. et Santé Anim.*, 56, 217-226.
- Muniraju, M., Munir, M., Parthiban, A. R., Banyard, A. C., Bao, J. Y., Wang, Z. L., Ayebazibwe, C., Ayelet, G., El Harrak, M., Mahapatra, M., Libeau, G., Batten, C., Parida, S. (2014). Molecular Evolution of Peste des Petits Ruminants Virus. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 2023-2033.
- Nawathe, D. R., Taylor, W. P. (1979). Experimental infection of domestic pigs with the virus of peste des petits ruminants. *Tropical Animal Health and Production*, 11, 120-122.
- OIE (World Organisation for Animal Health) (2012). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 7th Edition, Vol 1 and 2.
- Parida, S., Muniraju, M., Mahapatra, M., Buczkowski, H., Banyard, A. C. (2015) Peste des petits ruminants. *Veterinary Microbiology*, in press.

- Perry, B. D., Randolph, T. F., McDermott, J. J., Sones, K. R., Thornton, P. K. (2002). *Investing in animal health research to alleviate poverty* (Nairobi: International Livestock Research Institute), 148.
- Plowright, W., Cruickshank, J. G., Waterson, A. P. (1962). The morphology of rinderpest virus. *Virology*, 17, 118-22.
- Roger, F., Guebre Yesus, M., Libeau, G., Diallo, A., Yigezu, L. M., Yilma, T. (2001). Detection of antibodies of rinderpest and peste des petits ruminants viruses (Paramyxoviridae, Morbillivirus) during a new epizootic disease in Ethiopian camels (*Camelus dromedarius*). *Revue de Medecine Veterinaire*, 152, 265-268.
- Rossiter, P. B., Jessett, D. M., Wafula, J. S., Karstad, L., Chema, S., Taylor, W. P., Rowe, L., Nyange, J. C., Otaru, M., Mumbala, M., Scott, G. R. (1983). Re-Emergence of Rinderpest as a Threat in East-Africa since 1979. *Veterinary Record*, 113, 459-461.
- Saeed, I. K., Khalafalla, A. I., El-Hassan, S. M. and El-Amin, M. A. (2004). Peste des petits ruminants (PPR) in the Sudan: investigation of recent outbreaks, virus isolation and cell culture spectrum. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3, 361-365.
- Sen, A., Saravanan, P., Balamurugan, V., Rajak, K. K., Sudhakar, S. B., Bhanuprakash, V., Parida, S., Singh, R. K. (2010). Vaccines against peste des petits ruminants virus. *Expert Review of Vaccines*, 9, 785-796.
- Sen, A., Saravanan, P., Balamurugan, V., Bhanuprakash, V., Venkatesan, G., Sarkar, J., Rajak, K. K., Ahuja, A., Yadav, V., Sudhakar, S. B., Parida, S., Singh, R. K. (2014). Detection of subclinical peste des petits ruminants virus infection in experimental cattle. *Virus Disease*, 25, 408-411.
- Singh, R. P., De, U. K., Pandey, K. D. (2010). Virological and antigenic characterization of two Peste des Petits Ruminants (PPR) vaccine viruses of Indian origin. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 33, 343-353.
- Singh, B., Bardhan, D., Verma, M. R., Shiv, P., Sinha, D. K., Prasad, S. (2014). Estimation of economic losses due to peste de petits ruminants in small ruminants in India. *Veterinary World*, 7, 194-199.
- Soufien, S., Cosseddu, G.M., Ben Hassen, S., Hammami, S., Ammar, H.H., Petrini, A., Monaco, F. (2014). Peste des petits ruminants virus, Tunisia, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.*, 20(12), 2184-6.

LENGUA AZUL: SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO. ¿ES POSIBLE SU ERRADICACIÓN? EXPERIENCES FROM THE CURRENT (2014-15) OUTBREAK OF BLUETONGUE IN GREECE

VASILEIOU, N.G.C.^{1*}; CHATZOPOULOS, D.C.¹; GIANNAKOPOULOS, A.¹; IOANNIDI, K.S.¹; VALIAKOS, G.¹; AMIRIDIS, G.S.¹; CHOUZOURIS, T.M.¹; ATHANASIOU, L.V.¹; MAVROGIANNI, V.S.¹; PAPADOPOULOS, E.²; KYRIAKIS, K.S.³; BIRTSAS, P.⁴; SPYROU, V.⁴; BILLINIS, C.¹ and FTHENAKIS, G.C.¹

¹ Veterinary Faculty, University of Thessaly, Karditsa, Greece.

² School of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

³ College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, GA, USA.

⁴ Technological Education Institute of Thessaly, Larissa, Greece.

*vasileiounat@gmail.com

ABSTRACT

An outbreak of bluetongue (serotype 4) started in Greece and expanded throughout south-east Europe in 2014. The first disease was first diagnosed in south Greece, from where it expanded northwards up to Hungary by end of the year. Only Turkey opted for vaccination, whilst all other countries opted for conservative control measures. Sheep were the main animal species affected, in which we often observed anaemia, a rare manifestation of the disease. Other species affected included goats, cattle and roe deer. Apart from the direct effects of the disease (increased morbidity and fatality), after clinical remission, other consequences have been reported, e.g., infections by opportunistic pathogens, reduced reproductive efficiency. In the spring of 2015, vaccinations have been licenced, which might alter the course of the disease and help control it.

Keywords: bluetongue, Greece, sheep, vaccination.

BLUETONGUE OUTBREAK IN LIVESTOCK IN GREECE IN 2014

At the end of May 2014, a case of bluetongue was clinically diagnosed in Greece, in southern Peloponnese, over 400 km away from the nearest ever case of the disease. Clinical diagnosis was confirmed at the official diagnostic laboratory of the State Veterinary Service, by using competitive ELISA and Real-Time RT-PCR (World Organisation for Animal Health, 2014). By the end of June 2014, the disease had spread across Peloponnese and by end of August 2014, it was prevalent in the whole country.

In July 2014, bluetongue was also reported in Bulgaria. Cases of the disease were then (August to October 2014) reported in Albania, Bosnia and Herzegovina, Croatia, Former Yugoslavian Republic of Macedonia (FYROM), Hungary, Montenegro, Romania, Serbia and Turkey (World Organisation for Animal Health, 2014)

In Greece, cumulative results of cases of the disease that had been reported to the authorities indicated 2,895 outbreaks (Tasioudi *et al.*, 2015). These involved sheep, goats and cattle, with reported (up to October 2014) incidence risks of 7.5%, 2.0% and 2.5%, respectively and case fatality rate for sheep 34.5%. In other countries of the region, mouflon and bisons were also diagnosed with the disease (World Organisation for Animal Health, 2014).

Full length sequencing of genome segment 2 and phylogenetic comparisons of virus indicated that isolates from samples collected in Greece or in Bulgaria shared a 99.9% nucleotide similarity between them (Mertens *et al.*, 2014). Further comparisons showed that closest match within serotype 4 was with a strain isolated in Sudan in 1983 (94.2%-95.7% sequence similarity) (Mertens *et al.*, 2014). In segment 4 of the virus, there was a more close relation with two serotype 2 strains isolated in Tunisia or Italy, respectively (98.8% sequence similarity). Based on the available evidence, it was suggested that the causal strain of the 2014 outbreak in Greece was a reassortant strain with genome segments from lineages of serotype 1, 2 and 4 (Mertens *et al.*, 2014). This is not unusual in the Bluetongue virus family, where gene reassortment occurs frequently (Roberts *et al.*, 2014).

In a previous paper, we have reported (Vasileiou and Fthenakis, 2014) in detail clinical findings in sheep during the outbreak. In closely monitored flocks, we have found a much higher morbidity rate of the disease (around 24.0%) than the one reported by the veterinary service of Greece (World Organisation for Animal Health, 2014), which has suggested under-reporting of clinical cases by farmers and field veterinarians. Possible reasons for this can be (i) fears of farmers for complications

after reporting disease cases, e.g. reduced support payments, social reactions in small communities or legal requirements for disposal of dead animals, (ii) uncertainty from the part of those involved that declaration of cases to the authorities would lead to any improvement of the situation, (iii) under-staffing of the veterinary service or even (iv) fatigue of those involved consequently to the long duration of the outbreak. Under-reporting has been hinted by the relevant authorities in their report of 6th October 2014 to the World Organisation for Animal Health as 'missing information' (World Organisation for Animal Health, 2014).

Consistent clinical signs included anorexia and depression, nasal discharge, tachypnea and salivation and frothing. Other signs frequently observed (in 50%-75% of affected animals) were haemorrhagic lesions on the lips and the buccal mucosa, auscultatory findings, fever (up to 42.5°C) and severe anaemia, which had been previously rarely associated with the disease. Less frequent findings were abortion, locomotion disorders and regurgitation. The salient features in the post-mortem examination performed in one ewe were those of inflammation of the respiratory system. All cases were confirmed by laboratory tests. Administration of long acting oxytetracycline (20 mg kg bw⁻¹) was prescribed and appeared to contribute to milder adverse effects of potential secondary infections.

We have also reported the unusual clinical sign of anaemia, which has been identified as macrocytic, hypochromic, regenerative and non-haemolytic, as a frequent clinical feature in that outbreak, at the same time excluding by means of appropriate tests other potential causes of anaemia in sheep (Vasileiou and Fthenakis, 2014; Vasileiou *et al.*, 2015). Anaemia had rarely been reported as a clinical sign of the disease (Balaro *et al.*, 2014). In fact, Dercksen and Lewis (2007) have described that absence of anaemia can be used diagnostically for clinical differentiation of bluetongue from other diseases causing oedema in the head, e.g., *Haemonchus contortus* or *Fasciola hepatica* infections. As this is a new strain of the virus causing the disease, the findings confirm the many clinical facets of the disorder, which may differ accordingly to the causative serotype of the virus.

Despite suggestions that vaccinations should have been performed to limit the disease at the initial stages in Greece (Kyriakis *et al.*, 2014; Vasileiou and Fthenakis, 2014), the relevant authorities had opted to limit the outbreak by controlling insect vector activity by the use of insect repellants. Nevertheless, this approach led to expansion of the disease to other regions of Greece, well beyond the area of the initial outbreak, as well as to neighbouring countries. The disease has spread widely and significantly, over 1500 km from the initial outbreak in

southern Peloponnese to northern Romania, Serbia and Hungary (World Organisation for Animal Health, 2014), favoured by the warm weather conditions, which supported flight activity of the vectors and transmission of the virus.

In Turkey, vaccinations were initiated immediately after the first outbreak, where over 700,000 animals had been vaccinated (World Organisation for Animal Health, 2014), resulting to controlling the outbreak in that country. In contrast, all other countries of the region had opted to omit vaccinations and attempt to control the outbreak by other measures. This might have accounted for the quick spread of the disease.

FURTHER CONSEQUENCES OF THE OUTBREAK

As the outbreak spread within the country, other animal species were found to be infected. In a survey carried out in wildlife animals, Chatzopoulos *et al.* (2015a) have reported detection of the virus in samples of spleen and blood collected from hunter-harvested roe deer during September to November 2014. These findings have changed completely the potential of the disease in Greece, as wildlife animals can be subclinically infected carriers of the virus, which can command large territories and spread the virus to other areas of the country.

Later studies have also revealed further consequences of the infection. Chatzopoulos *et al.* (2015b) have reported an outbreak of diarrhea in newborn goat-kids, caused by *Citrobacter freundii*, an unusual, opportunistic gastrointestinal pathogen, in a farm with goats subclinically infected with the virus. As there was a correlation between antibody titres to the virus in adult goats and fatality cases in kids, the authors have postulated that bluetongue caused a decrease immunocompetence, which resulted in the *C. freundii* causing fatal disease in the newborns. Further, Chouzouris *et al.* (2015) have reported a significant deterioration of reproductive performance (23-54% decrease of pregnancy rate) in dairy cattle farms subclinically infected with bluetongue virus.

SITUATION IN SPRING 2015

Cases of the disease have subsided during the winter 2014-15, with no laboratory-confirmed cases diagnosed until mid-April 2015. At that time, the veterinary authorities have licenced for use in livestock the following three vaccines: (i) BTVPUR AlSap 4 inj. sol. for sheep (Merial, France), (ii) BLUEVAC-4 for sheep and cattle (CZ Veterinaria, Spain) and (iii) ZULVAC 4 (Zoetis, USA).

Vaccines have become available commercially at the end of May 2015, whilst reports from the field advocated possible new cases of the disease; results of laboratory examinations for these cases at the time of writing this abstract are still pending. If the clinical suspicions were verified, this would indicate that cases of the disease might have reappeared. It is expected that vaccinations would likely change the course of the disease in the coming months.

CONCLUSIONS

An outbreak of bluetongue (serotype 4) started in Greece in May 2014. No vaccinations were allowed and the disease spread throughout the country and beyond within three months. Various features and consequences of the outbreak are presented in this paper. Finally, in the spring of 2015, vaccinations have been licenced, which may alter the course of the disease and help control the infection in susceptible livestock.

REFERENCES

- Baloro, M.F.A., dos Santos Lima, M., Del Fava, C., de Oliveira, G.R., Pituco, E.M., Brandao, F.Z. (2014). Outbreak of *Bluetongue virus* serotype 4 in dairy sheep in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26, 567-570.
- Chatzopoulos, D.C., Valiakos, G., Giannakopoulos, A., Birtsas, P., Sokos, C., Vasileiou N.G.C., Papaspyropoulos, K., Tsokana, C.N., Spyrou, V., Fthenakis G.C., Billinis, C. (2015a). *Bluetongue Virus* in wild ruminants in Europe: concerns and facts, with a brief reference to bluetongue in cervids in Greece during the 2014. *Small Ruminant Research*, 128, 79-87.
- Chatzopoulos, D.C., Vasileiou, N.G.C., Ioannidi, K.S., Valiakos, G., Giannakopoulos, A., Billinis, C., Fthenakis, G.C. (2015b). Cases of diarrhoea in goat-kids caused by *Citrobacter freundii* in a herd subclinically infected with bluetongue. *Proceedings of the 13th Greek Veterinary Congress* (Athens, Greece), pp. 157-158.
- Chouzouris, T.M., Valiakos, G., Billinis, C., Amiridis, G.S. (2015). Consequences of infection by Bluetongue virus in dairy cattle farms. *Proceedings of the 13th Greek Veterinary Congress* (Athens, Greece), p. 157.
- Dercksen, D., Lewis, C. (2007). Bluetongue virus serotype 8 in sheep and cattle: a clinical update. *In Practice*, 29, 314-318.
- Kyriakis, C.S., Billinis, C., Fthenakis, G.C. (2014). Outbreak of bluetongue in Greece. *Position paper, Hellenic Veterinary Medical Society* (Athens, Greece), 21 Oct. 2014.
- Mertens, P., Batten, C., Nomikou, C. (2014). Bluetongue – Europe (15): Southeast Europe, serotype 4, genotype. *Promed Mail*, 06 Sep. 2014.
- Roberts, H., Smith, J., Batten, C., Nomikou, K., Mertens, P. (2014). *Bluetongue virus (BTV-4) in Greece, Bulgaria and the Republic of Macedonia*. Department for Environment, Food and Rural Affairs, United Kingdom.

- Tasioudi, K., Iliadou, P., Dilaveris, D., Ntountounakis, S., Markantonatos, G., Papatheodorou, D., Maggana-Vougiouka, O. (2015). Outbreak of bluetongue in 2014 – Report from the national reference laboratory. *Proceedings of the 13th Greek Veterinary Congress* (Athens, Greece), p. 156.
- Vasileiou, N.G.C., Athanasiou, L.V., Valiakos, G., Mavrogianni, V.S., Papadopoulos, E., Venianaki, A.P., Kyriakis, C.S., Billinis, C., Fthenakis, G.C. (2015). Anaemia, an unusual clinical sign of bluetongue in sheep, recorded during the recent (2014) outbreak of the disease in Greece. *Proceedings of the 13th Greek Veterinary Congress* (Athens, Greece), p. 157.
- Vasileiou, N.G.C., Fthenakis, G.C. (2014). Clinical experiences from the recent (summer 2014) outbreak of bluetongue in Greece. *Proceedings of 2nd European Conference in Small Ruminant Health Management* (London, October 2014).
- World Organisation for Animal Health (2014). World Animal Health Service Database. <http://www.oie.int>

LENGUA AZUL: SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO. ¿ES POSIBLE SU ERRADICACIÓN?

SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA ACTUAL DE LA LENGUA AZUL EN ESPAÑA

ROMERO, L.J.; MORENO, I.; ÁLVAREZ, M. y MUÑOZ, B.

Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal, MAGRAMA
sganimal@magrama.es

RESUMEN

La diseminación del serotipo 4 en gran parte del suroeste peninsular español durante el segundo semestre de 2014 ha obligado a adaptar las medidas de control de la enfermedad a la nueva situación epidemiológica, incrementando su zona de restricción. Respecto al serotipo 1, la ausencia de circulación del mismo durante los últimos 4 años en gran parte de España, consecuencia de sucesivas campañas de vacunación, ha permitido declarar el norte y este peninsular como zona libre de lengua azul. La vacunación obligatoria frente ambos serotipos está previsto que se mantenga durante los próximos años en las respectivas zonas restringidas con el objetivo de erradicar la enfermedad.

Palabras clave: Lengua azul, serotipo y vacuna.

Durante la temporada de actividad vectorial 2014-2105 han sido notificados 397 focos del serotipo 4 del virus de la Lengua azul, el primero de ellos el 22 de septiembre de 2014 en una explotación de ovino en la comarca de Posadas, provincia de Córdoba. Ello ha supuesto no sólo un incremento significativo del número de focos respecto a años anteriores (ver figura 2), sino además una extensión de la zona afectada por dicho serotipo hacia nuevos territorios, motivando sucesivas ampliaciones de la zona de restricción frente al serotipo 4 durante el último trimestre de 2014 (ver figura 1).

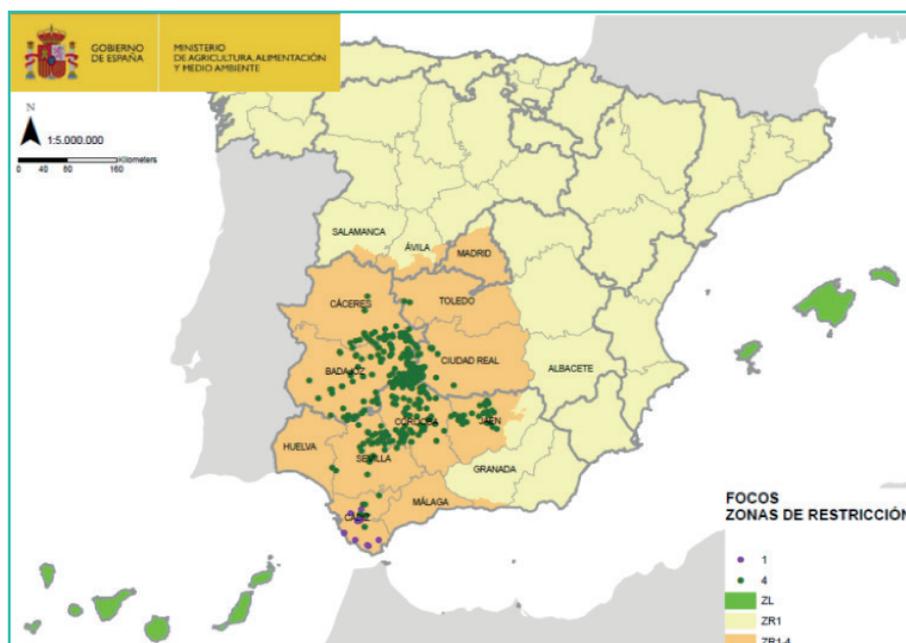


Figura 1. Focos de serotipo 1 y 4 del virus de la Lengua azul y zonas de restricción 2014.

En relación al serotipo 1, el 27 de octubre de 2014 se detectó la presencia de circulación viral de dicho serotipo en la provincia de Cádiz, habiéndose notificado un total de 13 focos en 2014, todos ellos en la mencionada provincia (ver figura 1). Estos focos están situados fuera de los límites de la zona de vacunación obligatoria que había sido establecida en 2013, como consecuencia de la persistencia desde el año 2010 de este serotipo en una zona limitada en el norte de la provincia de Cáceres y zonas limítrofes. El origen más probable de esta nueva reintroducción en el sur de la península ha sido su presencia en Marruecos.

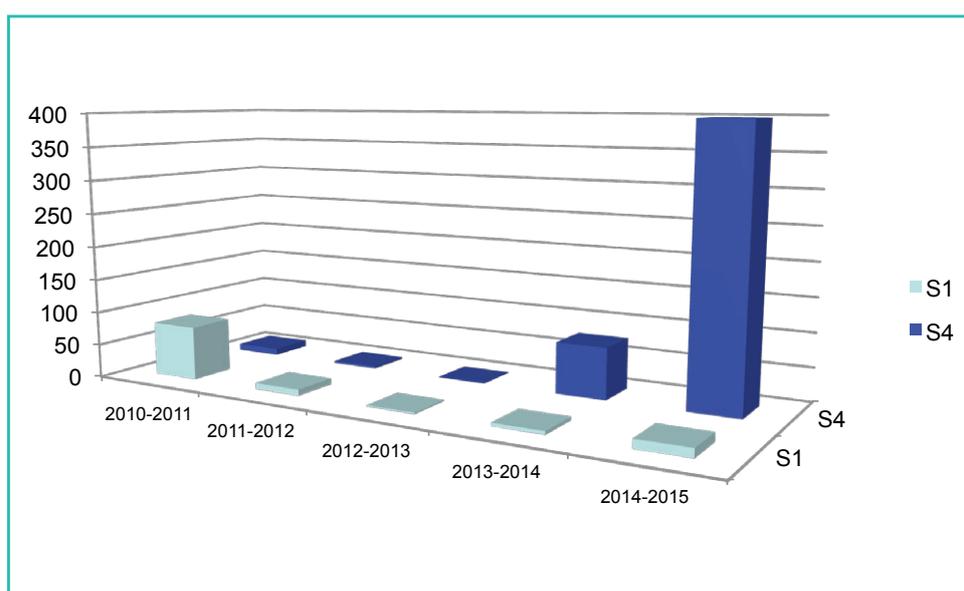


Figura 2. Focos de serotipos 1 y 4 del virus de la lengua azul, 2010-2015.

Teniendo en cuenta esta situación epidemiológica, se publicó la Orden AAA/88/2015, por la que se establecen medidas específicas en relación con la lengua azul, estableciendo un programa de vacunación obligatoria para el año 2015 y que se mantendrá durante los 4 años sucesivos, debiendo estar finalizada la primera de las campañas antes del 30 de junio del año en curso. Se incluyeron dos zonas de vacunación obligatoria, frente al serotipo 1 y al serotipo 4. Al igual que en años anteriores se mantenía la vacunación voluntaria frente al serotipo 1 en el resto de la península no incluida en la zona de vacunación obligatoria.

A partir de esta fecha, y hasta el inicio del siguiente periodo estacionalmente libre, todos los movimientos desde estas zonas de vacunación obligatoria deberían de ser animales vacunados o, en el caso de los menores de 4 meses, procedentes de madres vacunadas, y a su vez proceder de una explotación vacunada. Se considera que una explotación está vacunada cuando, durante el último año, se ha llevado a cabo una vacunación y revacunación, en caso de primovacunas, de acuerdo a las especificaciones de la vacuna y ésta ha alcanzado la totalidad de animales ovinos y bovinos mayores de 3 meses presentes en la explotación en la fecha de vacunación.

DECLARACIÓN DE ZONA LIBRE DE LENGUA AZUL EN EL NORTE Y ESTE PENINSULAR

La presencia de circulación del serotipo del virus de la lengua azul durante los últimos años se había detectado en la península sólo en la zona de vacunación obligatoria frente a dicho serotipo que se estableció en el norte de la provincia de Cáceres y comarcas aledañas, zona en la que los últimos focos se notificaron en diciembre de 2013, y en la provincia de Cádiz, donde se detectó la presencia de este serotipo a finales de 2014.

El resto del territorio peninsular cumplía por lo tanto la condición de ausencia de focos en las dos últimas temporadas de actividad vectorial (último foco en noviembre de 2011), condición necesaria para poder ser declarado libre frente a la enfermedad, por lo que el 5 de junio de 2015 se aprobó en el Comité PAFF en Bruselas la declaración de territorio libre de lengua azul en la zona norte y este peninsular española (ver figura 3). Por este motivo está prevista la próxima publicación en el BOE de una nueva orden ministerial con las nuevas zonas de restricción por la lengua azul, manteniendo la vacunación obligatoria frente a los correspondientes serotipos en sendas zonas de restricción y asociando el movimiento de animales a la vacunación.



Figura 3. Zonas de restricción por lengua azul en España, 5 de junio de 2015.

OBJETIVOS DEL PROGRAMA DE VACUNACIÓN FRENTE AL VIRUS DE LA LENGUA AZUL

Desde la primera aparición del virus en España, las campañas de vacunación obligatoria anuales, unidas a otras medidas de control, han conseguido controlar las graves consecuencias de la enfermedad, disminuyendo las tasas de morbilidad y mortalidad, especialmente tras los efectos causados por el serotipo 1 en ovino. También han propiciado largos periodos de silencio epidemiológico, como ocurrió entre noviembre del 2006 y octubre del 2010 con el serotipo 4, y ha permitido en algunos casos la erradicación definitiva, como es el caso de los serotipos 2 y 8.

Entre los objetivos de la campaña de vacunación establecida en la Orden AAA/88/2015 y mantenida en la orden de próxima publicación en el mes de julio, están la reducción de pérdidas económicas directas derivadas de la sintomatología clínica de los animales, especialmente en ganado ovino, así como de pérdidas indirectas debidas las restricciones al comercio, evitar la difusión del virus a zonas libres y facilitar las exportaciones. El objetivo final de esta campaña, motivo por el que la orden establece cuatro campañas de vacunación consecutivas, es la erradicación de la enfermedad.

Estudios epidemiológicos demuestran que para poder alcanzar la erradicación es necesaria una vacunación de forma continua a lo largo de varios años que garanticen cobertura de protección superior al 80% de la población susceptible. Por esta razón se han incluido todos los

animales ovinos y bovinos mayores de 3 meses presentes en la zona de afectada por cada uno de los serotipos, aunque los bovinos, a diferencia de los ovinos, no resulten clínicamente afectados por la enfermedad.

La zona de vacunación obligatoria para el serotipo 1 incluye toda la zona de riesgo de reintroducción de este serotipo, bien debido a su persistencia en los últimos años en el norte de la provincia de Cáceres y territorios adyacentes, o bien como consecuencia del riesgo que representa su reciente reintroducción en la provincia de Cádiz, coincidiendo con la zona de restricción por dicho serotipo (ver figura 3). La zona a vacunar frente a este serotipo cubre un censo de 1.100.000 bovinos y 4.200.000 ovinos.

En el caso del serotipo 4, desde la primera introducción de este serotipo en la península en el año 2004 los focos han estado asociados a zonas con presencia demostrada de *C. imicola* y han sido coincidentes en el tiempo con los registros más elevados de abundancia de este vector. Por ello, la vacunación se ha establecido en una zona lo suficientemente amplia para cubrir toda la zona de riesgo de este serotipo en base a los datos históricos de distribución del vector obtenidos a través del programa de vigilancia entomológica (ver figura 4). Los censos estimados de animales a vacunar frente al serotipo 4 son de alrededor de 1.500.000 bovinos y 5.500.000 ovinos.



Figura 4. Vacunación frente al serotipo 4, 2015

SUMMARY

Bluetongue control measures in Spain had to be adapted to the new epidemiological situation as consequence of the spread of serotype 4 in the Southwest mainland during the second semester 2014, increasing the BTV-4 restricted zone. Regarding serotype 1, the absence of its circulation during the last 4 years in the North and East of the Iberian peninsula, as consequence of consecutives vaccination campaigns, it has been possible to declare this territory as BT free zone. It is foreseen to maintain the compulsory vaccination against both serotypes in their respective restricted zones during the next years, with the goal of achieving the final eradication of the disease in Spain.

Key words: Bluetongue serotype and vaccine.

LENGUA AZUL: SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO. ¿ES POSIBLE SU ERRADICACIÓN? ESTRATEGIA DE CONTROL/ERRADICACIÓN PARA LA LENGUA AZUL EN ESPAÑA

PÉREZ DE DIEGO, A.C.^{1*}, VIGO, M.² y YUSTE, J.T.³

¹ Especialista en Sanidad Animal y Epidemiología - Consultora externa del Servicio de Sanidad Animal. Dirección General de Agricultura y Ganadería. Consejería de Agricultura. Gobierno de Castilla-La Mancha (Tragsa-SEPI).

² Jefe de Servicio de Sanidad Animal. Dirección General de Agricultura y Ganadería. Consejería de Agricultura. Gobierno de Castilla-La Mancha.

³ Director General de Agricultura y Ganadería. Consejería de Agricultura. Gobierno de Castilla-La Mancha.

*anacristina@sanidadanimal.info; aperezdi@tragsa.es

RESUMEN

La lengua azul es una enfermedad vectorial de sobra conocida en España. La experiencia ha demostrado que la vacunación es una medida efectiva para la erradicación de esta enfermedad. En la actualidad, además, se pueden emplear criterios de riesgo para la gestión de la lengua azul como se describe en la estrategia seguida en los últimos años frente a esta enfermedad en Castilla-La Mancha. La lucha frente a la lengua azul en el futuro próximo se basa principalmente en la vacunación mantenida en el tiempo y la vigilancia para la detección precoz.

Palabras clave: lengua azul, vacunación, gestión del riesgo.

EL PASADO DE LA LENGUA AZUL EN ESPAÑA

La lengua azul (LA) es una enfermedad vírica transmitida por insectos del género *Culicoides*. El virus responsable de la LA, del que se han descrito 26 serotipos hasta la fecha, pertenece al género *Orbivirus*. Además, resulta esencial recordar que entre los diferentes serotipos

no existe inmunidad cruzada, lo que como veremos, complica la lucha frente a esta enfermedad.

Esta enfermedad conocida desde 1902, llegó a España por primera vez en el verano de 1956, tratándose en aquella ocasión del serotipo 10 procedente de África y afectando tanto a ganado ovino como bovino. La siguiente incursión en territorio español, tendría lugar décadas después, en las Islas Baleares en septiembre del 2000, y a partir de este momento se sucederían las nuevas epidemias de esta enfermedad en España causadas por diferentes serotipos y con duración variable. Así, el serotipo detectado en el año 2000 sería el 2, y tan sólo 2 años después aparecería, también en territorio balear, el serotipo 4.

En el año 2004 el serotipo 4 entró en la península por la provincia de Cádiz. En 2007 sería el serotipo 1 el que accediera a la península por la misma zona, y el que con el paso del tiempo llegaría a territorio francés, donde además se localizaba el serotipo 8 que llegaría a España en 2008. En este sentido cabe resaltar que durante algunos años el mapa de Europa mostraba varios serotipos circulando no sólo por países mediterráneos como se observa en la figura 1.

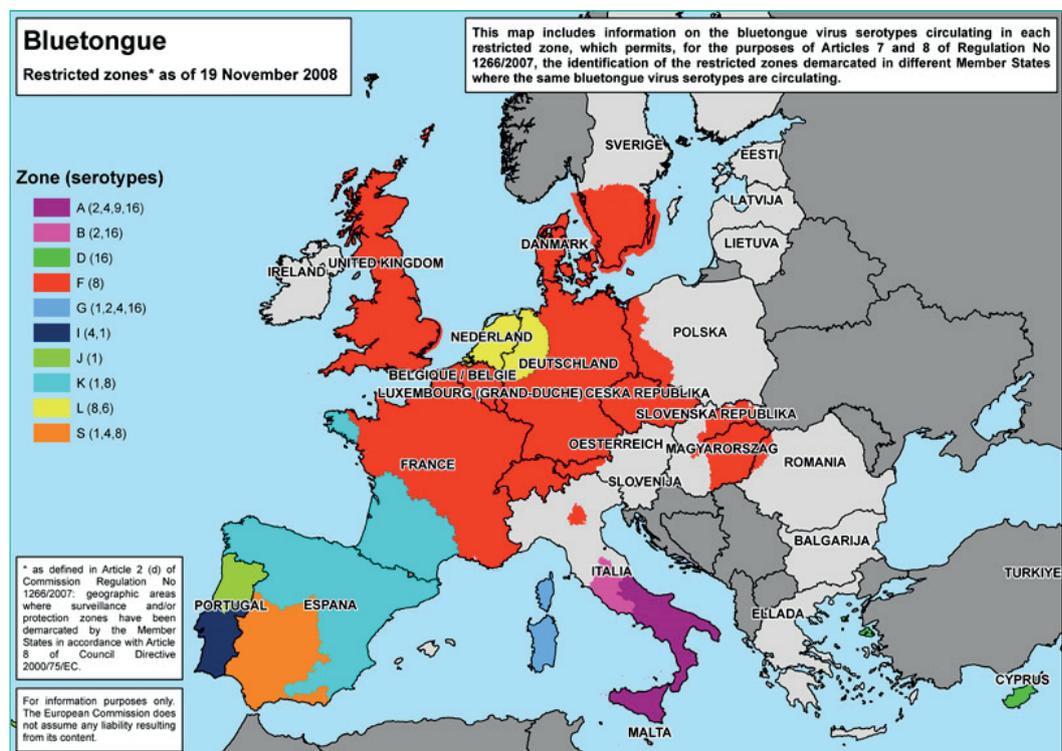


Figura 1. Situación en cuanto a serotipos y zonas de restricción en Europa en noviembre de 2008 (Fuente: DG SANCO, 2008).

VACUNACIÓN EN EL PASADO PARA EL CONTROL/ERRADICACIÓN DE LA LENGUA AZUL

En el pasado, en la lucha frente al serotipo 10 en la península, el serotipo 2 y el 4 en Baleares, se basó en la vacunación con vacuna viva atenuada frente al serotipo específico en cada caso, junto con la restricción de movimientos, y estas medidas condujeron a la erradicación de la enfermedad en pocos meses.

La situación frente al serotipo 4 en la península fue algo diferente, pues inicialmente se realizó una vacunación con vacuna viva atenuada, pero en la primavera de 2006 gracias a la disponibilidad de vacuna inactivada se modificó la estrategia, incluyendo también al ganado bovino siendo erradicada la enfermedad en 2008 con el último foco notificado en otoño de 2006. Así mismo, la lucha frente al serotipo 1 se ha basado en la vacunación con vacuna inactivada, lo que llevó a una situación de control de la enfermedad con focos esporádicos en 2011, 2012 y 2013.

Finalmente, el último serotipo en aparecer por primera vez en España, el serotipo 8, fue erradicado gracias a la vacunación obligatoria con vacuna inactivada, si bien es cierto, su expansión fue menor a la descrita en otros serotipos. España pudo declararse libre de este serotipo a finales de 2012.

UN EJEMPLO DE GESTIÓN BASADA EN EL RIESGO

A la hora de plantear estrategias de vigilancia, lucha y control de la enfermedad, en los últimos años se vienen aplicando criterios de riesgo para facilitar la toma de decisiones procurando mejorar la eficacia y eficiencia de las medidas adoptadas. Un ejemplo en este sentido ha sido la apuesta por la gestión integral de la lengua azul basada en el riesgo en Castilla-La Mancha desde 2013:

1. **Vacunación obligatoria en bovino y ovino basada en el riesgo, frente al serotipo 1, desde la primavera de 2013 en zonas de Castilla-La Mancha, Extremadura y Castilla y León.** En concreto, refiriéndonos a Castilla-La Mancha, se evaluó el riesgo en las zonas próximas a la zona extremeña de circulación vírica en diciembre de 2012. Para ello se utilizó la información disponible basada en mapas de presencia y previsión de *Culicoides*, y mapas preliminares de riesgo que además tienen en cuenta la densidad de animales susceptibles o las condiciones climáticas que favorecen la presencia del vector. Fruto de esta vacunación basada en el riesgo en Castilla-La Mancha sólo se detectó el virus en una explotación centinela dentro de la zona de vacunación obligatoria en 2013, y se disminuyó el

número de animales a vacunar respecto a una estrategia tradicional. Este serotipo se logró contener en esta zona, y no se ha detectado circulación en todo 2014 ni en el primer semestre de 2015, lo que demuestra que la vacunación ha sido efectiva.

2. Junto con la vacunación obligatoria, **en Castilla-La Mancha se estableció un programa de control de la vacunación** mediante la inspección *in situ* y sin previo aviso, de la vacunación efectuada a un número o porcentaje de explotaciones vacunadas por cada veterinario habilitado. Estas inspecciones se complementan con otras de tipo serológico efectuadas *a posteriori* en otras explotaciones, para confirmar la correcta vacunación y conocer de manera muy aproximada la cobertura vacunal alcanzada.
3. **Vacunación de emergencia frente al serotipo 4 en Castilla-La Mancha en 2014.** En septiembre de 2014 se detectó el serotipo 4 fuera de la zona de vacunación obligatoria que existía en Andalucía, y se notificó su presencia en el sur de la provincia de Ciudad Real. En este momento se decidió aplicar una vacunación de emergencia para establecer una zona que actuase como barrera inmunitaria y evitara así la dispersión de la enfermedad en sentido Norte y Este dentro del territorio regional. El fin de esta actuación pasaba por minimizar las consecuencias de la enfermedad. La zona afectada por la vacunación se estableció utilizando criterios de riesgo basados en la densidad de rumiantes, la presencia histórica de la enfermedad y mapas de riesgo. En un mes y medio toda la cabaña incluida en esta vacunación de emergencia había sido vacunada. La eficacia de esta estrategia de vacunación parece demostrada atendiendo a como evolucionó la enfermedad, pues resulta evidente que no se diseminó el virus más allá de la zona de vacunación establecida a modo de barrera inmunitaria como se observa en la figura 2.
4. Así mismo, y con el fin de **vigilar la evolución de la circulación del virus** se modificó el número y localización de explotaciones centinela, así como la periodicidad de los muestreos y el tipo de análisis.
5. Por último, a finales de 2014, se elaboraron sendos **mapas de riesgo para el serotipo 1 y el 4 en Castilla-La Mancha**, englobados dentro de los respectivos informes científico-técnicos sobre recomendaciones a la hora de plantear las vacunaciones para 2015. Estos, han servido como una herramienta más a la hora de establecer la estrategia de cara a la lucha frente a la lengua azul en 2015.

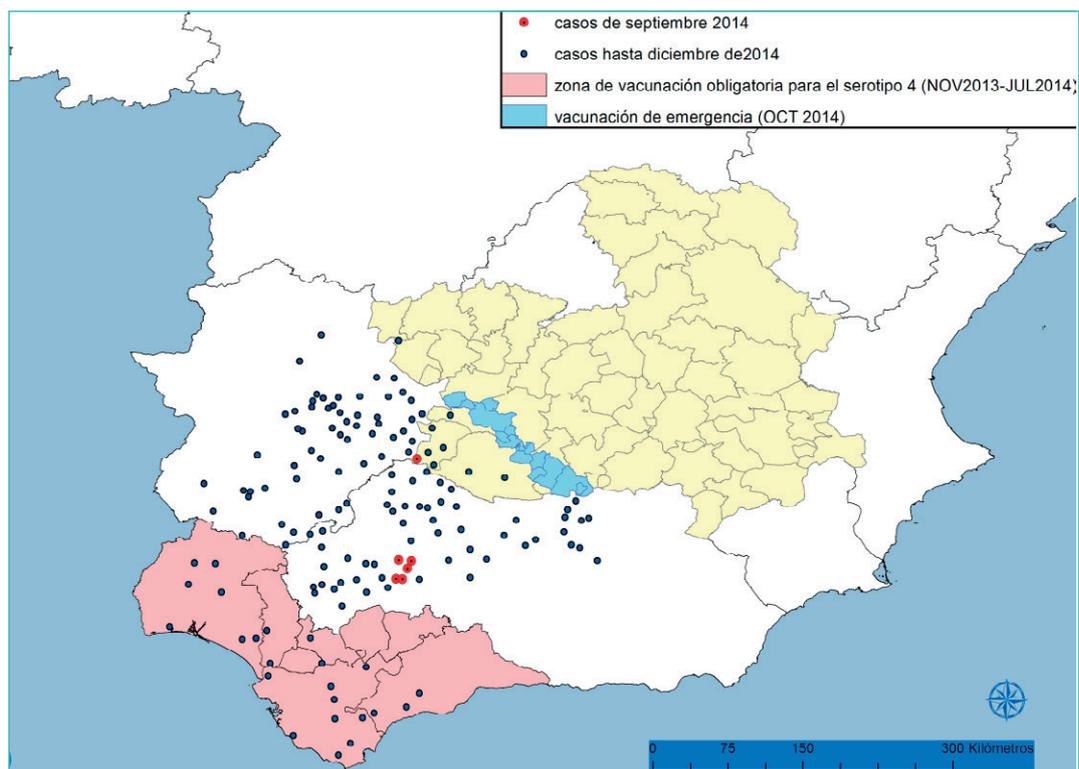


Figura 2. En rojo se representan los municipios en los que se notificaron los primeros casos del serotipo 4 en 2014, en rosa la zona de vacunación obligatoria con anterioridad a Julio de 2014, en azul claro la zona establecida para la vacunación de emergencia en octubre de 2014, y finalmente en azul oscuro los casos notificados hasta fin de año (Fuente: Pérez de Diego *et al.* 2015).

SITUACIÓN ACTUAL DE LA LUCHA FRENTE A LENGUA AZUL

Las zonas definitivas de vacunación obligatoria son las establecidas mediante la Orden AAA/88/2015, de 29 de enero, por la que se establecen medidas específicas de protección en relación con la lengua azul, publicada en el BOE del pasado 31 de enero y representada en la figura 3.

Además, en la estrategia actual basada en la vacunación obligatoria mediante el uso de vacunas inactivadas, y fruto de lo aprendido con la experiencia, se establece que la vacunación deberá realizarse durante cuatro campañas anuales consecutivas. Esta vacunación mantenida en el tiempo pretende garantizar una cobertura vacunal de la población susceptible suficiente a lo largo del tiempo, para lograr controlar y erradicar la enfermedad, de manera tal, que no se repitan experiencias pasadas en las que la reintroducción y recirculación del virus han conllevado una amplia dispersión, como ha sucedido en el otoño de 2014, donde fuera de la zona de restricción frente al serotipo 4, la población

llevaba años sin ser vacunada, dando lugar a un entorno idóneo para la expansión del virus.

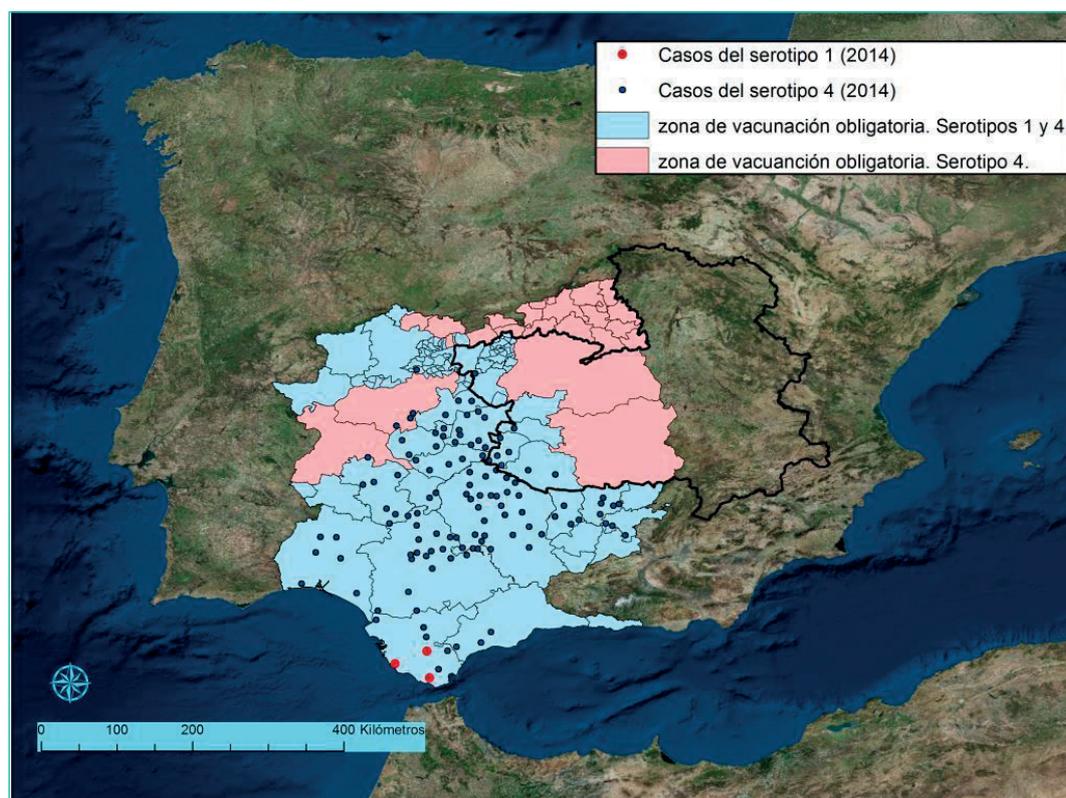


Figura 3. Zonas de vacunación obligatoria para el serotipo 4 (rosa) y 1+4 (azul) junto con la localización de los focos notificados durante 2014.

Junto con la vacunación como base del programa de control y erradicación, se mantienen los programas de vigilancia pasiva, serológica, entomológica, etc., y un protocolo de inspección-control de la vacunación.

CONCLUSIONES

Conociendo la evolución y los puntos de entrada de la enfermedad en el pasado, parece recomendable en las zonas de riesgo de entrada procedente del norte de África, realizar una vacunación preventiva frente a los serotipos circulantes en dicha zona.

Parece demostrado que en caso necesario, pueden ejecutarse vacunaciones de emergencia con el objetivo de facilitar los movimientos de animales y minimizar las consecuencias sanitarias y económicas, como se ha comprobado en Castilla-La Mancha.

La experiencia en la lucha frente a esta enfermedad ha permitido mejorar e implementar los planes de vigilancia, control y erradicación,

habiéndose demostrado la vacunación del ganado ovino y bovino como la medida más efectiva para su control y erradicación, aunque la aplicación de medidas como el confinamiento de los animales durante las horas de mayor actividad del vector (amanecer y atardecer) o el uso de insecticidas son medidas adicionales ayudan en el control de esta enfermedad.

Además, ya se ha establecido que al tratarse de una enfermedad vectorial, el sacrificio de los animales presentes en las explotaciones afectadas carece de sentido.

Para que la lucha frente a esta enfermedad sea efectiva, se requiere de la colaboración de todos los agentes implicados, especialmente de los ganaderos y veterinarios.

BIBLIOGRAFÍA

- SANCO, D.G. (2008). http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/docs/bluetongue_restrictedzones-map.jpg
- MAGRAMA (2015). Orden AAA/88/2015, de 29 de enero, por la que se establecen medidas específicas de protección en relación con la lengua azul.
- Martínez-López, B., Linares, F., Martínez, M., Mur, L., Rodríguez, V., Sánchez-Vizcaíno, J. (2009). Evaluación, cuantificación, consecuencias y futuro de la Lengua Azul en España. (Unpublished, ENESA-Agroseguro-UCM).
- Pérez de Diego, A.C., Sánchez-Cordón, P.J., Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2014. Bluetongue in Spain: from the first outbreak to 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61, e1-11.
- Pérez de Diego, A., Sánchez-Cordón, P., Sánchez-Vizcaíno, J., (2015). Evolución histórica y situación actual de la lengua azul en España. Albéitar Portal Veterinaria.
- Pérez de Diego, A.C., Ruiz, J.M., (2015). Castilla-La Mancha: un ejemplo de lucha contra la Lengua Azul. *MG Mundo ganadero*, 263, 22-27. ISSN 0214-9192

CONTROL/ERADICATION STRATEGY AGAINST BLUETONGUE IN SPAIN

SUMMARY

Bluetongue is a very well-known vector borne disease in Spain. The experience has shown the effectiveness of vaccination for leading to eradication. Currently, risk criteria are also taken into account when facing this disease as it is described in the Castilla-La Mancha strategy against bluetongue followed in the last years. The future strategy is mainly based on vaccination maintained over time, and surveillance to guarantee an early detection.

Key words: Bluetongue, vaccination, risk management.

LENGUA AZUL: SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO. ¿ES POSIBLE SU ERRADICACIÓN? EL VECTOR: NUEVOS CONOCIMIENTOS, IMPLICACIONES EN UN PLAN DE CONTROL

LUCIENTES, J.

Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria
Universidad de Zaragoza
jlucien@unizar.es

RESUMEN

En los últimos 15 años se han detectado en Europa hasta 8 serotipos diferentes de Lengua azul. Cinco especies de Diptera han demostrado ser vectores competentes: *Culicoides imicola*, *Culicoides obsoletus*, *Culicoides scoticus*, *Culicoides chiopterus* y *Culicoides dewulfi*. Las dos especies más abundantes en España, *C. imicola* y *C. obsoletus* tienen una distribución que se complementan, presentando hábitats y periodos de actividad diferentes. Debido a la diversidad y abundancia de los lugares de cría y la capacidad de vuelo de estos insectos su control es imposible, por ello la medida más adecuada para proteger a los animales de su picadura es el empleo tópico de repelentes o insecticidas. El más eficaz es la Deltametrina pour-on que tienen un marcado efecto repelente durante tres a cuatro semanas y un efecto insecticida hasta de 7 semanas.

Palabras clave: Lengua Azul, *Culicoides* vectores, Control, Deltametrina.

En estos últimos 15 años los conocimientos que se han generado sobre la Lengua Azul han sido importantes. En el momento actual se conocen hasta 27 serotipos diferentes, de ellos se han detectado ocho en la Unión Europea y cuatro en España.

Inicialmente se consideraba a *Culicoides imicola* como el único vector de la Lengua Azul pero la irrupción de diferentes serotipos en Europa ha demostrado que otras especies están vinculadas en la transmisión

Se ha comprobado que los vectores principales están incluidos dentro del Subgénero Avaritia

- *Culicoides imicola*
- *Culicoides obsoletus* Complejo

Culicoides obsoletus

Culicoides scoticus

Culicoides chiopterus

Culicoides dewulfi

Se han implicado también otras especies del Subgénero Culicoides

- *Culicoides pulicaris* Complejo

Culicoides pulicaris

Culicoides punctatus

Culicoides newsteadi

Aparte de *Culicoides imicola* y *Culicoides obsoletus* s.s. no está claro el papel que juegan en la transmisión las otras especies implicadas.

Culicoides imicola es una especie de origen afrotropical que está adaptada a temperaturas medias anuales por encima de 15°C mientras que las especies del complejo *Culicoides obsoletus* y *Culicoides pulicaris* son especies paleárticas adaptadas a gradientes térmicos más bajos.

La distribución de *Culicoides imicola* en España está prácticamente limitada al cuadrante sur oeste donde presenta densidades elevadas, sobre todo en las zonas de dehesas de Andalucía, Extremadura y Castilla La Mancha, con poblaciones no muy abundantes pero estables en el sur de Galicia y zonas del Valle del Duero en Castilla León, seguramente como extensión de las poblaciones portuguesas. También está presente en las islas Baleares y zonas aisladas de la costa de Cataluña especialmente en Gerona.

Culicoides obsoletus sin embargo se encuentra sobre todo en la mitad norte de España donde es muy abundante. En la mitad sur está asociada a zonas de montaña y raramente coinciden con *Culicoides imicola*.

La presencia de las diferentes especies está ligada a la existencia de hábitats larvarios adecuados. Cada una tiene hábitats de cría diferentes incluso presentan comportamientos distintos. Ninguna de estas especies crían en aguas libres. *Culicoides imicola* selecciona para poner sus

huevos zonas abiertas, normalmente pastizales sin vegetación arbórea con abundante materia orgánica y cierto grado de humedad y con una temperatura por encima de 25°C . Las especies del Complejo *Obsoletus* crían asociadas al estiércol de los rumiantes. Algunas como *C. scoticus* en las heces de los animales y otras en prados arbolados con materia fecal mezclada con suelos húmedos, o incluso crían en la cama dentro de las explotaciones ganaderas como *Culicoides obsoletus* s.s.

Culicoides imicola pica preferentemente en el exterior de las construcciones y están activos desde el anochecer hasta media noche, mientras que *C. obsoletus* puede picar también dentro de las instalaciones ganaderas, incluso en época invernal cuando no hay ejemplares activos en el exterior por las bajas temperaturas.

Culicoides imicola es una especie que presenta un pico de población que tiene sus máximos de actividad en Septiembre/Octubre mientras que el Complejo *obsoletus* presenta dos picos de actividad en muchas zonas de España y su mayor abundancia suele ser en Mayo/Junio.

Tradicionalmente la lucha frente a dípteros vectores de enfermedades se realiza de forma integrada realizando el control de las diferentes fases del ciclo vital. En el caso de los *Culicoides* esta lucha integrada es prácticamente imposible.

Al existir múltiples especies de vectores, aumenta la diversidad de lugares de cría y la extensión de los mismos, lo que hace que la lucha frente a los estados larvarios sea muy compleja y difícil de realizar. Medidas como el manejo del estiércol y el secado de zonas húmedas con barros puede ayudar, sobre todo arreglar bebederos.

La lucha frente a los adultos tampoco es eficaz. No conocemos los lugares de reposo diurnos, aunque seguramente lo hacen en la vegetación próxima a los hábitats de cría, y sobre todo su capacidad de dispersión, ya que son capaces de desplazarse ayudados por el aire, entre 3 y 5 km al día en condiciones normales, por lo que se tendrían que realizar tratamientos insecticidas sobre grandes superficies de terreno, que aparte de resultar muy costoso originaría un impacto importante en el medio ambiente.

La única herramienta adecuada es la protección frente a las picaduras. Al ser insectos de actividad crepuscular y nocturna el proteger a los animales en establos por la noche puede disminuir el riesgo de contraer la enfermedad, aunque hay especies, como *Culicoides obsoletus*, que se introduce en los establos para picar o incluso cría en el interior de los mismos.

En estos momentos el uso de sustancias repelentes e insecticidas sobre el animal sería el método recomendado de actuación. Su uso estaría limitado a aquellos rebaños o animales que no estén vacunados.

Los insecticidas matan a los insectos que entran en contacto con el producto normalmente en la piel o los pelos de los animales tratados o en la sangre que ingieren. El inconveniente es que para que sean efectivos tienen que establecerse contacto directo entre el animal tratado y los *Culicoides* pudiendo estos picar y se puede producir la inoculación del virus. Normalmente son productos que tienen un amplio espectro de acción y se emplean también frente a otros ectoparásitos, como garrapatas, pulgas o moscas.

Más útil son los productos repelentes. Estos evitan que los *Culicoides* se posen sobre los animales y por lo tanto que lleguen incluso a picar y se evita que se infecten y si lo están que puedan transmitir los virus.

El producto más contrastado es la Deltametrina pour-on. Los estudios realizados señalan que los *Culicoides* prefieren picar en la cabeza de los animales así como en el pecho, vientre y zonas internas de las extremidades, por lo que se recomienda aplicarlo dorsalmente desde la cabeza hasta la base de la cola, y también en la parte superior interna de las extremidades. El efecto empieza a producirse a los cuatro días del tratamiento y conviene repetirlo cada 3 o 4 semanas. El efecto insecticida puede ser de larga duración, hasta 7 semanas después de su aplicación. Vigilar los periodos de retirada en carne y leche que son diferentes para ganado ovino y bovino.

Se recomienda utilizar en animales que no están protegidos frente a los serotipos activos o son necesarios métodos de protección cuando no existen vacunas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ayllon, T., Nijhof, A.M., Weiher, W., Bauer, B., Allene, X., Clausen, P.H. (2014). Feeding behaviour of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) on cattle and sheep in northeast Germany. *Parasite and Vectors*, 7(1), 34.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M.A., Borrás, D., Calvo, J.H., Lucientes, J. (2008). Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(2), 124-134.
- Carpenter, S., Veronesi, E., Mullens, B., Venter, G. (2015), Vector competence of *Culicoides* for arboviruses: three major periods of research, their influence on current studies and future directions. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34(1), 97-112

- Mullens, B.A., Gerry, A.C., Sarto i Monteys, V., Pinna, M., González, A. (2010), Field Studies on *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) Activity and Response to Deltamethrin Application to Sheep in Northeastern Spain. *Journal of Medical Entomology*, 47(1), 106-110.
- Purse, B.V., Carpenter, S., Venter, G.J., Bellis, G., Mullens, B.A. (2015). Bionomics of Temperate and Tropical *Culicoides* midges: Knowledge Gaps and Consequences for Transmission of Culicoides-Borne Viruses. *Annual Review of Entomology*, 60, 373-392.
- Schmahl, G., Klimpel, S., Walldorf, V., Al-Quraishy, S., Schumacher B., Jatzlau, A., Melhorn, H. (2009). Pilot study on deltamethrin treatment (Butox®7.5, Veratrine®) of cattle and sheep against midges (*Culicoides* species; Ceratopogonidae). *Parasitology Research*, 104, 809-813.
- Schmahl, G., Melhorn, H., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K., Schumacher, B., Jatzlau, A., Pohle, H. (2009). Does rain reduce the efficacy of Butox 7.5 pour on (Deltamethrin) against biting midges (*Culicoides* specimens). *Parasitology Research*, 105, 1763-1765. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-009-1619-2>
- Venail, R., Mathieu, B., Setier-Rio, M.L., Borba, C., Alexandre, M., Viudes, G., Garros, C., Allene, X., Carpenter, S., Baldet, T., Balenghien, T. (2011). Laboratory and field-based tests of deltamethrin insecticides against adult *Culicoides* biting midges. *Journal of Medical Entomology*, 48(2), 351–357.
- Wehier, W., Bauer, B., Mehlitz, D., Nijhof, A.M., Clausen, P.H. (2014). Field trials assessing deltamethrin (Butox®) treatments of sheep against *Culicoides* species. *Parasitology Research*, 113: 2641-2645.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M.A., Borrás, D., Calvo, J.H., Lucientes, J. (2008). Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Medical and Veterinary Entomology*, 22(2), 124-134.

SUMMARY

In the last 15 years in Europe have been identified eight different serotypes of bluetongue. Five species of Diptera have proven to be competent vectors : *Culicoides imicola*, *Culicoides obsoletus*, *Culicoides scoticus*, *Culicoides chiopterus* and *Culicoides dewulfi*. The two most abundant species in Spain, *C. imicola* and *C. obsoletus*, have a different distribution, presenting different habitats and periods of activity. The integrated control against these species would be practically imposible for the diversity and abundance of breeding sites, and ignorance in the behavior of the adults. The most suitable for protecting animals from bites of these insects is the topical use of repellents or insecticides. A product of choice is the Deltamethrin pour -on, with a repellent effect of three to four weeks and an insecticide effect until 7 weeks.

Key words: Bluetongue, *Culicoides* vectors, control, Deltamethrin.

BERRUGA, M.I. ^{1*}; MOLINA, A.¹; ALTAHUS, R.L.² y MOLINA, M.P.³

¹ Departamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética, ETSIAM-IDR, Universidad de Castilla-La Mancha, 02071 Albacete.

² Universidad Nacional del Litoral, Cátedra de Biofísica. R.P.L., Kreder, Esperanza, Argentina.

³ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

*mariaisabel.berruga@uclm.es

RESUMEN

En esta ponencia se expone la problemática de la presencia de residuos y contaminantes en la leche de oveja y cabra, abordándose las consecuencias de su presencia, las principales causas de su aparición y los mecanismos de control necesarios para garantizar una leche de calidad y segura para el consumidor.

Palabras clave: residuos, contaminantes, antibióticos, micotoxinas, leche.

1. RESIDUOS EN LA LECHE DE PEQUEÑOS RUMIANTES

La necesidad de mejorar la calidad de los alimentos y garantizar su inocuidad ha llevado a las autoridades sanitarias a regular una serie de normas dirigidas al control de los alimentos destinados al consumo humano y animal. Así, en 2004 la Unión Europea estableció un paquete de normas por el que se regulaba la higiene de los alimentos (Reglamento CE 852/2004) y los estándares de higiene específicos de los alimentos de origen animal (Reglamento CE 853/2004) entre los que se incluye la leche de oveja y cabra. En ellos se fijan los parámetros higiénico-sanitarios a valorar en la leche cruda de estas especies, y entre los aspectos regulados

se incluye el control de residuos y contaminantes. Y concretamente entre éstos la Directiva 96/23/CE establece la lista de sustancias que se deben controlar en la leche (Grupo A 6. Sustancias incluidas en el Anexo IV del Reglamento CEE 2377/90 del Consejo, de 26 de junio de 1990 (Actualmente Tabla 1 en el Anexo del Reglamento CE 37/2010 de la Comisión de 22 de diciembre de 2009); Grupo B1. Sustancias antibacterianas, incluidas las sulfamidas, quinolonas; Grupo B2. Otros medicamentos veterinarios: a) Antihelmínticos, e) Antiinflamatorios no esteroideos (AINS); Grupo B 3. Otras sustancias y contaminantes medioambientales: a) Compuestos organoclorados, incluidos los PCB, b) Compuestos organofosforados, c) Elementos químicos, d) Micotoxinas).

Los residuos señalados en la Directiva 96/23/CE llegan a la leche fundamentalmente como consecuencia de la aplicación de tratamientos veterinarios preventivos y/o terapéuticos al ganado lechero. De entre todos, son aquellos de tipo antimicrobiano, y mayoritariamente antibióticos, los que están sujetos a un mayor control sanitario. El motivo es claro, las consecuencias que derivan de su presencia en la leche son de extrema importancia, y por eso merecen especial atención en esta ponencia.

No obstante, existen otros medicamentos de uso en ovino y caprino sujetos a control porque su presencia en la leche también puede afectar a la salud de los consumidores con mayor o menor gravedad. Uno de estos casos sería el de los residuos de antiparasitarios, donde el problema se agrava por la utilización de antiparasitarios no registrados para su uso en estas especies. Tsiboukis y col. (2013) han señalado que existe una mayor tendencia a encontrar residuos en leche de pequeños rumiantes, y que debido a su naturaleza lipofílica tienden a concentrarse en derivados lácteos como el queso, nata o mantequilla, siendo además altamente resistentes a los tratamientos térmicos que se aplican en la industria láctea (Imperiale y col., 2009), pudiendo llegar al consumidor a través del consumo de estos alimentos.

1.1. ¿Por qué son un problema los residuos de antimicrobianos en leche?

Su presencia en la leche tiene implicaciones a varios niveles. La principal, dada su relevancia en la *salud pública*, es el riesgo que supondría para el consumidor que una sustancia utilizada para el tratamiento de una patología llegase a la leche que va a ser consumida por éste. Entre las alergias a medicamentos, las alergias a antibióticos como la penicilina o la amoxicilina representan más del 40% de los casos (Gamboa, 2009), y éstos son dos de los antibióticos más utilizados en la terapia de infecciones de la glándula mamaria en ovejas y cabras

(Berruga y col., 2008a). Las manifestaciones más frecuentes suelen ser cutáneas, pero en casos extremos pueden incluso provocar reacciones anafilácticas generalizadas. También los residuos de antibióticos pueden alterar el metabolismo y desarrollo normal del microbioma intestinal provocando una menor capacidad para asimilar hierro, para digerir ciertos alimentos, o producir moléculas esenciales para el organismo (Pérez-Cobas y col., 2012). Asimismo, la influencia de la ingesta de alimentos portadores de residuos de antibióticos sobre el desarrollo de resistencias microbianas es un hecho constatado desde hace varias décadas (Philips y col., 2004).

La *industria láctea* también se ve afectada por la presencia de estas sustancias, ya que en muchos procesos fermentativos participan bacterias extremadamente sensibles a los principales antibióticos de uso rutinario en el tratamiento del ganado lechero. Esta presencia puede producir defectos organolépticos en los productos finales o fallos en la coagulación o la maduración del derivado lácteo (Grunwald, 2003). En estudios previos de nuestro grupo de investigación se observó en yogures de oveja, que incluso en presencia de niveles de residuos de betalactámicos cercanos o inferiores a sus respectivos Límites Máximos de Residuos (LMR), pueden aparecer retrasos de coagulación superiores a 40 minutos y variaciones en su composición final (Berruga y col., 2007a; 2008b; Novés y col., 2015), así como retrasos de la bajada del pH en prensa en quesos de pasta prensada desde 5 hasta 300 minutos (Berruga y col., 2007b). Además, muchos de los controles oficiales podrían ser malinterpretados al alterarse la carga microbiana de una muestra de leche y enmascarar su calidad microbiológica real. Por último, es importante destacar que la mayoría de los tratamientos térmicos que se emplean en la industria láctea para higienizar la leche y eliminar patógenos no tienen un impacto muy elevado sobre los residuos ya que en general no se inactivan tras el tratamiento térmico (Zorraquino y col., 2008, 2009, 2011; Roca y col., 2010).

Los *productores* son también parte sensible ya que sobre ellos recae la responsabilidad de producir y suministrar leche libre de residuos, pudiendo ser sancionados y penalizados en el pago por calidad, y por tanto ocasionándoles graves pérdidas económicas. Además, en estos casos serán responsables de los costes de su destrucción de la leche contaminada al ser considerada como material de categoría 2 en la clasificación de Subproductos de Origen Animal No Destinados a Consumo Humano (Reglamento CE 1069/2009).

Por último, hay que destacar que los residuos de los tratamientos antibióticos tienen además *implicaciones medioambientales*, ya que cuando se eliminan a través de la leche, orina y/o las heces pueden

contaminar las capas superficiales del suelo acumulándose en él o filtrarse a las aguas subterráneas afectando a la microflora, microfauna y a la calidad de las aguas subterráneas, con serias consecuencias para el medioambiente (Kemper, 2008; Martínez-Carballo y col., 2007).

1.2. ¿Por qué llegan estos residuos de antimicrobianos a la leche?

Son varios los trabajos realizados en las últimas décadas para conocer las causas que dan lugar a la contaminación de la leche tras una terapia antibiótica. La mayor parte se han centrado en explotaciones de vacuno lechero, si bien los motivos son ciertamente extrapolables a ganaderías de ovino y caprino. Los tratamientos de mastitis clínica y terapias de secado son, en la mayoría de los casos, el origen de una leche contaminada por antibióticos. Pero la auténtica raíz del problema no se encuentra en el propio tratamiento, sino en aspectos relacionados con la falta de seguimiento de unas correctas prácticas ganaderas tras la aplicación de éstos (Kaneene y Ahl, 1987; McEwen y col., 1991; Fabre y col, 1995). La negligencia de los operarios representa según Sánchez y col. (2001) la principal causa (30% de los casos), aunque el uso de medicamentos inadecuados (29%) o incorrectos periodos de supresión (22%) también tienen un peso importante entre las causas de contaminación de la leche. La transferencia accidental de leche contaminada a los tanques, una pobre o nula identificación de los animales tratados o la falta de documentación de los tratamientos aplicados son algunos de los motivos señalados por la mayoría de los autores, que muchas veces justifican en la escasa formación de los operarios, y cuyas consecuencias confluyen directamente en el uso de la leche antes de cumplir el periodo de supresión. Pero también el uso de medicamentos no autorizados, o la mala aplicación de un tratamiento “extra-label” o fuera de etiquetado están directamente relacionados, ya que en estos casos no existe un periodo de supresión concreto para cada sustancia, salvo el fijado por la legislación que es de no menos de 7 días (Directiva 2001/82/EC), lo que puede dar pie a algunas negligencias. De la misma forma, en rebaños en los que no se lleva una buena gestión de las terapias de secado también suelen encontrarse, con frecuencia, residuos de antibióticos en la leche al principio de la lactación.

Otra cuestión que se puede plantear es el verdadero alcance o incidencia que tiene la contaminación con residuos de antibióticos en la leche de ovino y caprino. Cabe destacar el esfuerzo realizado por el sector para reducir el número de muestras contaminadas por residuos, llegando a equiparar su calidad a la de vaca. Hace no más de una década en las principales regiones productoras de leche de oveja se observaban

incidencias de muestras positivas entre el 6 y el 11% (Esnal y col., 2002; Yamaki y col., 2004; Althaus y col., 2007). Valores similares han sido señalados por Marco y col. (2001) en leche de cabra (12,7%). Pero en la actualidad el porcentaje de muestras confirmadas como positivas en los laboratorios interprofesionales se encuentra en el rango de 0,1-0,001% (Brusa y Safigueroa, 2005; Gonzalo y col., 2012; 2013), cifra muy similar a la señalada en otros países de nuestro entorno en ésta y otras especies lecheras. En este avance ha influido mucho la puesta en marcha de buenas prácticas ganaderas y la mejora en los sistemas de control de calidad de la leche de pequeños rumiantes. Aunque también la validación de los métodos analíticos para su funcionamiento con la leche de estas especies ha tenido un papel relevante, ya que en algunos casos las altas incidencias han estado asociadas al tipo de test utilizado en el análisis (Yamaki y col., 2004; 2006) o a la presencia y tipo de conservante en la muestra a analizar (Althaus y col., 2007).

Es también esencial conocer el riesgo potencial de encontrar residuos antibióticos en la leche de estas especies para poder establecer una correcta estrategia de control. Para ello, en 2008 el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MARM) encargó a nuestro grupo una encuesta nacional para conocer cuáles eran las patologías que afectaban a las especies ovina y caprina que requerían tratamiento antibiótico, y el tipo de sustancias empleadas. Esta encuesta, dirigida a veterinarios de Agrupaciones de Defensa Sanitaria, puso de manifiesto que la mastitis era la principal patología que requiere terapia antimicrobiana en ambas especies (Berruga y col., 2008a), para la que un alto porcentaje de los encuestados (72% para oveja y 77% para cabra) señalaban que realizaban terapia antibiótica para tratar la mastitis durante la lactación. Entre las principales sustancias empleadas en mastitis ovinas se encontraban los betalactámicos (80%) y los macrólidos (36%), repitiéndose este patrón para el tratamiento de las mastitis en caprino (80 y 27%, respectivamente). En las terapias de secado de nuevo confirmaban el uso de antibióticos el 82% (oveja) y 73% (cabra) de los encuestados, siendo también los betalactámicos y los macrólidos los antibióticos más empleados. Para el tratamiento de otras patologías los antibióticos de elección señalados en ambas especies fueron las tetraciclinas, empleadas en un 48%, seguidas por los betalactámicos con un 25%. Algo destacable de este estudio es que a pesar de la escasez o inexistencia de algunas familias de antibióticos registrados para su uso en pequeños rumiantes (macrólidos o quinolonas), parece que hay una tendencia a utilizar estos antibióticos. Ello evidencia la escasa oferta de especialidades antibióticas registradas para ovino y caprino lechero en comparación con el ganado vacuno, y fuerza a los clínicos al empleo excepcional de

medicamentos bajo la cascada de prescripción (Directivas 2001/82/EC y 2004/28/EC), aplicando periodos de supresión de un mínimo de 7 días. Este uso implica una gran responsabilidad para el veterinario y aumenta el riesgo de aparición de residuos ya que el comportamiento farmacocinético y el metabolismo no está bien definido. De hecho, varios estudios en ovino y caprino han constatado que este periodo de 7 días no siempre es suficiente para garantizar una leche libre de residuos (Molina y col., 2003a; Ferrini y col., 2010). En nuestro estudio el 67% de los veterinarios confirmaron el uso en cascada en ovino y el 77% en caprino principalmente de quinolonas, macrólidos y cefalosporinas.

1.3. ¿Cómo se puede evitar que los residuos antibióticos lleguen a la leche?

Como se ha señalado anteriormente, las consecuencias de la presencia de residuos antibióticos en la leche son serias, y es por tanto de extrema importancia garantizar su ausencia o al menos que estos residuos se encuentren a niveles seguros para el consumidor.

El planteamiento básico sería evitar el uso de antibióticos, ya que si no se emplean no hay riesgo. Sin embargo, resulta oportuno detenerse a pensar si esta afirmación puede realmente llevarse a cabo. De sobra es conocido que la intensificación ganadera ha generado un incremento en la aparición de patologías infecciosas que requieren de terapia antimicrobiana, para frenar infecciones agudas o para tratar procesos crónicos que permanecen latentes en la población y provocan pérdidas de rendimiento productivo. Aunque también existen enfermedades infecciosas en los sistemas de producción extensiva. Y en ambas situaciones será necesario aplicar terapias antibióticas para sanar y para respetar las más elementales normas del bienestar animal. Por lo tanto, el objetivo debe centrarse en prevenir, o en su caso evitar que tras un tratamiento los residuos lleguen a la leche.

Para ello se debe incidir en el establecimiento de sistemas de autocontrol basados en Buenas Prácticas Ganaderas, y cuyos principios básicos se incluyen dentro del “Paquete de Higiene” europeo (Reglamentos CE 852/2004 y 853/2004). En el caso del ovino y el caprino de leche, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación ha publicado desde 2007 Guías de Prácticas Correctas de Higiene y Manuales para la producción de leche cruda específicas para cada especie, donde se detallan las áreas y las acciones en las que se debe incidir para evitar la presencia de residuos en la leche. En concreto estas áreas son la sanidad animal, la higiene en el ordeño y el propio uso de los medicamentos en los tratamientos. Y entre las acciones a realizar

se incluye la identificación de animales tratados, la separación de la leche procedente de estos animales y la realización de un protocolo de actuación ante la aparición de mamitis, así como respetar el periodo de supresión de los medicamentos en los tratamientos.

Y si bajo determinadas circunstancias estos sistemas fallasen, las autoridades sanitarias han creado mecanismos de control dirigidos a minimizar los riesgos de aparición de residuos en la leche. Una herramienta de control fundamental son los límites de seguridad o Límites Máximos de Residuos (LMR; Reglamento CE 37/2010). De este modo se establece para cada sustancia antibiótica o sus metabolitos los límites máximos admisibles en cada tejido diana (músculo, leche, huevos, etc.) y especie, y que previamente han sido testados para garantizar la seguridad del consumidor. Para el control de los residuos de antibióticos en leche se plantean dos niveles de análisis, regulados a través de la Decisión 657/2002/CE, que establece las características que deben cumplir los métodos de análisis y especifica los criterios para la interpretación de los resultados. En el primer nivel se sitúa el análisis de cribado o “screening”, que se corresponde con el primer paso dentro de un programa de control de residuos, y el otro nivel se corresponde con el análisis de confirmación y cuantificación. El objetivo principal de cada uno de estos niveles determina el tipo de método que se debe seleccionar y la etapa del proceso en la que se debe realizar (Tabla 1). La etapa de cribado se realiza en las explotaciones ganaderas, centros lácteos y laboratorios de control autorizados para impedir la llegada de residuos antibióticos al consumidor y su entrada en los procesos fermentativos en la industria. Mientras que la confirmación se realiza en los controles oficiales establecidos por los Planes Nacionales de Investigación de Residuos (PNIR) y permite identificar y cuantificar sin error la presencia de una sustancia. Los métodos empleados en esta etapa se basan principalmente en la cromatografía líquida seguida de cuantificación espectroscópica UV, de fluorescencia o espectrometría de masas (MS), siendo métodos muy laboriosos que requieren personal cualificado, lo que hace que una prueba tenga un tiempo de análisis largo y un precio elevado.

Tabla 1. Clasificación de los métodos de detección.

TIPOLOGÍA	ETAPA DEL CONTROL	CARACTERÍSTICAS	MÉTODOS MÁS EMPLEADOS
CRIBADO MÉTODOS CUALITATIVOS No específicos Requieren confirmación 	Laboratorio Interprofesional (controles LETRA Q y controles oficiales)	<i>Presencia o ausencia residuo:</i> Rápidos, baratos, fácil manejo	Microbiológicos (BRT, Blue Yellow Charm, Delvotest, Eclipse, ...)
	Explotación ganadera y Centro lácteo (controles LETRA Q y otros autocontroles)	<i>Específicos sustancia o grupo:</i> Muy rápidos, caros, fácil manejo	Enzimáticos Inmunoenzimáticos Unión a receptores (Beta Star, ROSA Charm, Penzym, Snap, Twinsensor,...)
CONFIRMACIÓN MÉTODOS CUANTITATIVOS	Organismos de control (muestreos aleatorios) PNIR	<i>Identificación y cuantificación:</i> Laboriosos, caros, calibración	Técnicas cromatográficas (HPLC, CG,...)

Además, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente ha regulado a través del Real Decreto 752/2011 (también conocido como LETRA Q) los controles mínimos obligatorios para la detección de residuos antibióticos a realizar en la leche cruda de oveja y cabra en las diferentes etapas productivas (granja y centro lácteo), así como las actuaciones a realizar tras la prueba de detección de residuos de antibióticos, y las características mínimas que deben tener los métodos de detección de inhibidores. Concretamente deben utilizarse métodos validados con arreglo a normas o protocolos reconocidos internacionalmente que garanticen como mínimo la detección de antibióticos betalactámicos (al menos amoxicilina y ampicilina) al nivel de sus LMRs. También en su Anexo IV.4.c. señala que estos métodos deberán ser capaces de detectar los límites máximos de residuos de los antibióticos establecidos en el Reglamento CE 37/2010. En cuanto a los controles mínimos relativos a antibióticos, en las explotaciones de ovino y caprino lechero deberán tomarse al menos dos muestras mensuales de leche de tanque para el análisis de antibióticos en laboratorio autorizado, y ante la sospecha o certeza de presencia de residuos la normativa contempla la realización de un análisis “*in situ*” antes de cargar la cisterna. En los centros lácteos se tomarán dos muestras de leche de todas las cisternas antes de proceder a su descarga, la primera será para el análisis de inhibidores en laboratorio autorizado, y con la segunda se hará un análisis “*in situ*”.

Entre los métodos cualitativos que se emplean en el cribado de rutina de residuos antibióticos en leche, los microbiológicos son los más frecuentes en los laboratorios de control. Fueron los primeros en desarrollarse en los años 50 para cubrir la necesidad de la industria de controlar la entrada de residuos que pudiesen ser dañinos para sus procesos fermentativos. Estos métodos evidencian la inhibición de un microorganismo indicador, en la mayoría de los test comerciales *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (el más sensible a betalactámicos). Estos métodos aprovechan la habilidad de las bacterias para producir ácido, reducir colorantes o producir halos de inhibición en un medio de cultivo dando un resultado que se puede interpretar visualmente. En España los tests comerciales más utilizados son BRT, Delvotest y Eclipse, en sus distintas versiones (algunas mejoradas para la detección de determinados grupos de sustancias), que tienen capacidad para detectar, a sus correspondientes LMRs, un gran número de sustancias del grupo de los betalactámicos. Pero que son menos sensibles en la detección de aminoglucósidos, quinolonas y algunas tetraciclinas. Por lo general, el precio/muestra de estos tests es bajo, pero requieren de dos a tres horas para obtener el resultado, lo que desde el punto de vista práctico los invalida para las pruebas requeridas en los controles “*in situ*” que establece LETRA Q.

En un segundo nivel analítico de cribado se encuentran los métodos cualitativos, que permiten la determinación específica de una sustancia o familia concreta por encima del nivel de interés. Este es el caso de varios tests comerciales enzimáticos (Penzym), inmunológicos (Tecna, Randox) o basados en receptores (BetaStar, ROSA Charm, SNAP o Twinsensor, en cada una de sus variantes). Estos tests son más rápidos (resultados en menos de 10 min), y por ello se denominan coloquialmente como métodos rápidos. Serían los indicados para las pruebas “*in situ*” en granja y centro lácteo, y también permiten la interpretación visual.

1.4. Métodos de control de residuos antibióticos en leche de oveja y cabra

La mayoría de los métodos de cribado disponibles en el mercado han sido originalmente desarrollados para el control de la leche de vaca, y se han introducido en la rutina de análisis de leche de oveja y cabra sin considerar en muchos casos que la leche de estas especies es diferente. Desde hace más de una década nuestro grupo de investigación ha tratado de validar estos métodos para ofrecer al sector una estrategia de análisis adecuada para la leche de estas especies. Comenzando por los métodos microbiológicos de cribado comerciales se puede señalar que aunque en los últimos años la sensibilidad de estos métodos ha mejorado con respecto a la descrita anteriormente (Althaus y col., 2001;

Althaus y col., 2003a,b; Montero y col., 2005; Linage y col., 2007; Sierra y col., 2009a,b), todavía presentan algunas limitaciones. Son adecuados para la detección de betaláctamicos, neomicina, tilosina, sulfadiacina y sulfadimetoxina en leche de oveja y cabra, pero no muestran óptimas sensibilidades para la detección de otros grupos antimicrobianos como las tetraciclinas o las quinolonas al LMR (Beltrán y col., 2015a). En cuanto a su especificidad, en general es elevada en ambas especies con valores por encima del 95%, lo que indica un porcentaje reducido de “falsos positivos” (Beltrán y col., 2015a).

Otro inconveniente de estos métodos ha sido el gran número de resultados “falsos positivos” encontrados. Así, se ha observado que cuando la leche de oveja contiene algún conservante la especificidad de los métodos empeora (Molina y col., 2003b; Montero y col., 2005). Aunque en casos como el del acidol se pueden reducir estas interferencias prolongando los tiempos de incubación (Zorraquino y col., 1997; Molina y col., 1999). Las muestras recogidas siguiendo las directrices de LETRA Q deben enviarse a los laboratorios con una composición y dosis determinada de acidol, por lo que hay que extremar la atención en la dosificación para evitar errores de interpretación. También la propia matriz puede interferir en la respuesta de los métodos. En leche de oveja un alto contenido en células somáticas (Althaus y col., 2003b; Beltrán y col., 2015a) puede aumentar el número de muestras no conformes, mientras que en leche de cabra no parecen interferir (Contreras y col., 1997; Beltrán y col., 2015a). Las interferencias debidas a los inhibidores naturales también han sido descritas, aunque pueden evitarse con un tratamiento previo de calentamiento de la leche antes de su análisis (Molina y col.; 1999; 2003b). Además, Althaus y col. (2003b) observaron resultados cuestionables en presencia de altos contenidos en grasa y proteínas que podía dificultar la difusión de leche de oveja a través del medio de cultivo de algunos tests. En general, salvo en algunos métodos concretos, donde se ha visto que altos contenidos en grasa y ácidos grasos como el miristoleico, butírico o cáprico (Barbosa, 1997; Romero, 2015), en los métodos actuales estos componentes lácteos parecen no interferir en los resultados (Beltrán y col., 2015a). Otro factor que puede afectar a la respuesta de estos métodos son las condiciones de almacenamiento de las muestras de leche antes de su análisis. Borrás y col. (2013) demostraron que las muestras no permanecen estables a 4°C y recomendaban su análisis antes de 48 h.

Algunas prácticas realizadas en la explotación podrían derivar también en resultados “falsos positivos”. Romero y col. (2014a) han comprobado recientemente en leche de cabra que durante las primeras 48 horas postparto la presencia de calostro en la leche podría causar resultados

anómalos en la leche analizada con métodos microbiológicos, probablemente debido a su alto contenido en inmunoglobulinas e inhibidores naturales. Por lo tanto, debe vigilarse atentamente el manejo del ganado para evitar que la leche se contamine con calostro. También en este trabajo los autores destacaron la incapacidad de los métodos microbiológicos para la detección de antibióticos en el calostro. El mal aclarado de la máquina de ordeño y sus conducciones podría asimismo comprometer la calidad de la leche de cabra, ya que a concentraciones superiores a 1 ml/l la presencia en la leche de residuos de detergentes alcalinos y algunos domésticos (basados en sodio lauril sulfato y etanol) podría ser la causa de “falsos positivos” en los tests microbiológicos (Romero y col., 2014b; Romero, 2015), además de reducir ligeramente la sensibilidad de los métodos frente a betalactámicos. Por otro lado, el uso de antiparasitarios también merece atención ya que algunos tests microbiológicos son sensibles y capaces de detectar sus residuos (Romero, 2015), aunque para ello deban encontrarse a altas concentraciones. Cuando Romero (2015) estudió el efecto de tratamientos con albendazol o ivermectina en cabras en lactación observó interferencias en la lectura de algunos de los métodos microbiológicos, que atribuyó a cambios en la respuesta inmune de las cabras tras el tratamiento, más que a la propia sustancia. Por lo tanto, es fundamental extremar la atención y aplicar buenas prácticas en la aplicación de medicamentos en el ganado lechero para limitar el riesgo de presencia de resultados positivos o “falsos positivos”.

Cuando aparecen en el mercado los métodos basados en receptores (rápidos) se plantean los mismos interrogantes respecto a su adecuación a la leche de pequeños rumiantes. Porque al igual que ocurrió con los métodos microbiológicos se desarrollaron para la leche de vaca. Nuestro grupo (Beltrán y col., 2013; 2014a,b; 2015a) ha estudiado recientemente en leche de oveja y cabra la capacidad de detección (CC β) de varios de estos métodos específicos (Charm MRL BLTET, Betastar Combo, SNAP Betalactam, SNAP Tetracycline y TwinsensorBT) para el análisis de betalactámicos y/o tetraciclinas, observando que detectan la mayoría de las sustancias a niveles iguales o inferiores al LMR, presentan una alta especificidad, y no muestran reacciones cruzadas con otras familias antibióticas, ni interferencias como consecuencia de la presencia de acidiol en las muestras.

Es evidente que aun disponiendo de una gran variedad de métodos para detectar antibióticos en leche de oveja y cabra su capacidad parece ser limitada. Si tenemos en cuenta además el sistema de control establecido oficialmente en nuestro país (Real Decreto 752/2011), y el modo y frecuencia en el uso de antibióticos en ovino y caprino lechero

(Berruga y col., 2008a), parece necesario plantear alguna estrategia de análisis que garantice la máxima seguridad para el consumidor. Con ese objetivo, Beltrán y col. (2015b) han evaluado todas las variables citadas para proponer una estrategia analítica para la detección de residuos antibióticos en leche de pequeños rumiantes. Así, el uso de un único test sólo permitiría detectar entre el 62 y el 82% de los antibióticos utilizados en nuestro país. En el caso de leche de oveja, un método microbiológico daría mayor cobertura que un método de receptores, mientras que con la cabra se tendrían similares resultados. En ambos casos, estos autores señalan que la máxima cobertura se obtendría con el análisis simultáneo con dos métodos de diferente base analítica (microbiológica y de receptores), aumentando el alcance a valores cercanos al 90% de las sustancias empleadas en España. Aun así, sustancias como la enrofloxacin, marbofloxacin, espiramicina y estreptomicina serían difícilmente detectables salvo que se encontrasen en niveles muy elevados en la leche; por lo que sería recomendable controlar periódicamente la presencia de estas sustancias con otros métodos más sensibles para garantizar la seguridad de la leche de oveja y cabra y de sus derivados.

2. PRESENCIA DE CONTAMINANTES EN LA LECHE DE PEQUEÑOS RUMIANTES

Otro tipo de sustancias indeseables en la leche son los contaminantes medioambientales. Dentro de este grupo de compuestos según la Directiva 96/23/CE se debe vigilar la presencia de organoclorados, incluidos los policlorobifenilos (PCB), dioxinas, compuestos organofosforados, elementos químicos (cromo, cadmio, plomo, arsénico o mercurio, entre otros) y micotoxinas. Muchos de estos contaminantes llegan a la leche a través de la ingesta del ganado de alimentos procedentes de cultivos contaminados o almacenados en contacto con éstos, o de matrices como suelos y forrajes. La principal característica de todas estas sustancias es su tendencia a una mayor acumulación en derivados (quesos, nata, etc.) que en la leche, ya que muchos de ellos se acomplejan con las proteínas o se acumulan en la grasa. Esta afinidad por la grasa y las proteínas hace también que muchas de ellas tiendan a acumularse en los tejidos y compartan efectos negativos sobre la salud del consumidor (actividad hepatotóxica, carcinogénica, teratogénica, genotóxica, inmunosupresora, etc.). Aunque la mayor parte de los trabajos se centran en su presencia en leche de vaca, también se han descrito diversos casos de presencia de contaminantes (plomo, cadmio, arsénico, pesticidas organoclorados, PCBs, dioxinas) en leche y derivados de pequeños rumiantes, aunque en la mayoría de los casos los niveles detectados no superaban los límites

máximos admitidos por la legislación (Suárez y col., 1998; Brambilla y col., 2011; Licata y col., 2012).

En los últimos años ha aumentado la preocupación por la contaminación de la leche por micotoxinas, y más concretamente por la aflatoxina M1, posiblemente debido a la crisis de 2003 en Italia, donde las condiciones climáticas de ese verano provocaron la contaminación de un alto volumen de cereales, originando una situación de emergencia que llevó a la contaminación de la leche (Petri y Piva, 2007). Ya sea también por la reciente alerta encontrada en Andalucía donde más de 2 millones de litros de leche resultaron positivos a AF M1 por una partida de cereales contaminada (Caravaca, 2013). Tras la presencia de residuos de antibióticos, las aflatoxinas son los compuestos más buscados en los controles de residuos y contaminantes en leche. Por este motivo, este apartado se centra en el análisis de la problemática de las micotoxinas en la leche de oveja y cabra.

2.1. ¿Por qué es un problema la contaminación con micotoxinas de la leche?

Las micotoxinas son un grupo de metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que se asocian con la aparición de efectos adversos en humanos y otros vertebrados. Bajo determinadas condiciones ambientales físicas (humedad, temperatura), químicas (pH, nutrientes, suficiente oxígeno) y biológicas (daño físico de la materia prima, presencia de esporas de hongos, cepas específicas), algunos hongos son capaces de producir estos compuestos y contaminar los alimentos. Los hongos micotoxigénicos que juegan un papel más importante en la contaminación de la cadena alimentaria son fundamentalmente los pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Soriano, 2007).

Las micotoxinas de mayor importancia en la leche son las aflatoxinas (AFs). Las patologías causadas por la ingestión de AFs pueden ser agudas y llegar a causar la muerte, o actuar de forma crónica dando lugar a cáncer (IARC, 1993) e inmunosupresión, siendo también teratogénicas, genotóxicas y antinutricionales. El órgano diana primario afectado por la toxicidad y carcinogenicidad es el hígado. Se conocen 18 tipos de AFs, de las que son de importancia por su toxicidad la AF B1, seguida por su derivado metabólico la AF M1, que se origina cuando la AF B1 se oxida a nivel hepático y renal, y que se excreta mayoritariamente a través de la leche, siendo 10 veces menos carcinogénica. Es por tanto la aflatoxina que se encontrará con mayor probabilidad en la leche y sus derivados lácteos si un animal ha ingerido un alimento contaminado con AF B1. Y es además la más estudiada (Flores-Flores y col., 2015) y

la única para la que la Unión Europea ha establecido Límites Máximos de Residuos en leche (0,050 µg/kg).

Pero se puede encontrar otras micotoxinas en la leche como la ocratoxina A (OTA), aflatoxinas G1, G2, B1, B2 y M2, fumonisina B1, ácido ciclopiazónico, zeralona y deoxinivalenol (Flores-Flores y col., 2015). La mayoría de estas toxinas son también metabolitos secundarios producidos en los alimentos por las especies *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, y varias han sido también clasificadas como posibles carcinógenos para el hombre por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, 1993).

2.2. ¿Por qué llegan las micotoxinas a la leche?

Los sustratos preferidos por los hongos micotoxigénicos para crecer y desarrollar micotoxinas son los cereales y sus subproductos (Soriano, 2007; Duarte y col., 2012), y la contaminación puede ocurrir en cualquier etapa del proceso productivo, desde la cosecha hasta su almacenamiento. No obstante, para que esta contaminación tenga lugar deben confluír diversos factores ambientales (humedad, temperatura, daños mecánicos, etc.) que permitan al moho desarrollarse en las condiciones óptimas para producir toxinas. El ganado lechero, al ingerir piensos contaminados por micotoxinas podría transferirlas a la leche, o metabolizarlas a otras toxinas que podrían ser excretadas. Por tanto, es el uso de materias primas contaminadas para la alimentación animal el origen de esta contaminación. Un caso típico sería el de un animal que ingiere un pienso contaminado con mohos del género *Aspergillus* que han producido aflatoxina B1, y tras la ingesta el animal metaboliza a nivel hepático esta toxina a aflatoxina M1 que se excreta a través de la leche dentro de las 12-24 h posteriores a la ingesta del alimento contaminado con AF B1 (Battacone y col., 2003; 2012), y si no se detecta la contaminación podría extenderse y concentrarse en los derivados lácteos, ya que la AF M1 tiene gran afinidad por las proteínas lácteas (Battacone y col., 2005; Viridis y col., 2008; Rubio, 2011). El nivel de transferencia es variable, entre el 0,08 y el 6% dependiendo de la especie o nivel de lactación del animal (Rubio, 2011), observándose que la especie ovina presenta las transferencias más bajas (Battacone y col., 2005). En un estudio *in vitro* (Rubio y col., 2011a; 2011b), se ha constatado también que la AF M1 puede concentrarse de 2 a 4 veces en el queso manchego. Otra vía de contaminación podría ser la inhalación de partículas contaminadas con las micotoxinas, como polvo o esporas fúngicas como ya se ha descrito con la ocratoxina A, aunque esta toxina se transfiere en menos de un 1% a la leche ya que se metaboliza a nivel ruminal (Duarte y col., 2012).

Sin embargo, los productos lácteos también podrían contaminarse directamente por la presencia de hongos en una leche en polvo destinada a elaborar derivados o en un queso; producto que es además muy sensible ya que en algunas variedades durante la etapa de maduración intervienen hongos que podrían producir aflatoxinas y otras micotoxinas como la ocratoxina A o la fumonisina B1 (Rubio, 2011; Duarte y col., 2012; Flores-Flores y col., 2015).

En una reciente revisión de Flores-Flores y col. (2015), en la que se han analizado todos los estudios sobre incidencia de positivos a AF M1 en leche rumiantes, se ha puesto de manifiesto que la incidencia de esta aflatoxina en leche de oveja y de cabra en Europa y Asia puede ser superior al 30% (entre el 31 y el 81% de las muestras analizadas), si bien muy pocas muestras presentaban un nivel superior al LMR europeo. El tipo de alimentación desempeña un papel importante en el riesgo de contaminación, observándose que el pastoreo, más ligado al ovino y caprino que al vacuno, reduce el riesgo de contaminación por aflatoxinas (Flores-Flores y col., 2015). Respecto a la incidencia de AF M1 en nuestro país, Rubio y col. (2011a) monitorizaron leche de 407 tanques, 82 silos y cuajada de queserías de leche de oveja y detectaron la presencia de AF M1 en casi el 50% de las muestras, aunque sólo un 0,7% de las muestras de tanque, y un 1,2% de las de silo, presentaron niveles superiores al LMR. La información sobre presencia de AF M1 en cabra es escasa, aunque Barrios y col. (1996) detectaron niveles comprendidos entre 20 y 200 ng/kg en más del 45% de los quesos de oveja, cabra, vaca y mezcla analizados, siendo los quesos curados los más contaminados.

2.3. ¿Cómo se puede evitar que las micotoxinas lleguen a la leche?

El mejor sistema para evitar la contaminación de la leche por micotoxinas, y más específicamente por aflatoxinas es la *prevención*, ya que las micotoxinas son sustancias bastante estables a los tratamientos que normalmente se aplican en la industria láctea (Duarte y col., 2012; Rubio, 2011). Tal y como describe Rubio (2011), los programas de control pasan desde el establecimiento de LMRs, a programas de seguimiento de micotoxinas en productos sensibles (alimentación animal), o incluso procedimientos de descontaminación.

Dado que la AF M1 es la que presenta un mayor riesgo sanitario en la leche, y su origen es fundamentalmente la ingesta de alimento contaminado con AF B1, la clave en prevención es evitar el crecimiento de mohos en los cereales y piensos destinados al ganado lechero. En este sentido, se puede actuar a tres niveles: reduciendo el riesgo de

infección de los cultivos (fungicidas, riego controlado), minimizando la susceptibilidad de los cultivos a las infecciones fúngicas (variedades resistentes al crecimiento de mohos, control biológico), asegurando que las condiciones de transporte y almacenamiento no permitan el crecimiento del hongo y la formación de AFs. Aunque algunas de estas propuestas tienen un éxito limitado, bien porque son insuficientes, bien porque exigen el uso de sustancias fungicidas que pueden producir residuos por sí mismos.

Pero si no se puede prevenir la contaminación se puede optar por aplicar *tratamientos detoxificantes* en las etapas posteriores, no olvidando que deben seleccionarse aquellos que destruyan esporas fúngicas que pudieran sintetizar la toxina, o a la propia toxina. Pero sin producir o dejar residuos durante el tratamiento, ni alterar el valor nutritivo del producto o sus propiedades tecnológicas. Existen tratamientos físicos (selección manual de zona contaminada, lavado en seco, radiación, o uso de adsorbentes que suelen ser compuestos inorgánicos a base de sílice o polímeros orgánicos a base de carbón), químicos (amonio, sosa cáustica, peróxido de hidrógeno, bisulfitos, organoclorados, formaldehído y ozono suelen ser eficaces, pero algunos pueden dejar residuos o reducir el valor nutricional de alimento tratado) y métodos biológicos (levaduras, bacterias lácticas y algunos hongos son capaces de biodegradar las AFs o de ocupar el nicho ecológico de los hongos productores, o algunas especias, hierbas aromáticas o aceites esenciales que pueden inhibir el crecimiento de hongos).

Debido a la gran importancia de las aflatoxinas se debe vigilar y controlar la presencia de estas sustancias en la leche y sus derivados. La Unión Europea ha fijado en 0,05 µg/kg el LMR de la AF M1, y varios países han establecido también límites máximos para queso (entre 0,2 y 0,45 µg/kg) y mantequilla (0,02 µg/kg). Son diversos los métodos desarrollados para comprobar que estos niveles se cumplen en la leche. La reglamentación europea regula el muestreo y las metodologías analíticas en su Reglamento CE 401/2006. En leche de vaca el método de referencia es el HPLC con detección fluorimétrica previo tratamiento de la muestra por columnas de inmunoafinidad, y aunque se han descrito otros métodos basados en técnicas cromatográficas, en los últimos años se han desarrollado una gran variedad de métodos comerciales basados en ensayos inmunoenzimáticos ELISA. Estos ensayos desarrollados inicialmente para leche de vaca (Rosi y col., 2007), han sido estudiados también en leche de cabra (Viridis y col., 2008) y en leche de oveja (Rubio y col., 2009), postulándose como una opción comercial aceptable para el cribado de AF M1 en tiempos más cortos a los requeridos por la

cromatografía, que quedaría reservada para controles oficiales o para la confirmación de positivos o sospechosos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su agradecimiento a todas aquellas personas cuyo apoyo y participación ha hecho posible la realización de todos los proyectos desarrollados a lo largo de estos años, así como a todos los organismos públicos y empresas que los han financiado, y en particular a las ganaderías colaboradoras.

BIBLIOGRAFÍA

- Althaus, R., Molina, M.P., Rodríguez, M., Fernández, N. (2001). Evaluation of the BRT method for detection of betalactams antibiotics in ewe milk. *Milchwissenschaft*, 56:568-572.
- Althaus, R.L., Torres, A., Montero, A., Balasch, S., Molina, M.P. (2003a). Detection limits of antimicrobials in ewe milk by Delvotest photometric measurements. *J. Dairy Sci.*, 86:457-463.
- Althaus, R.L., Torres, A., Peris, C., Beltrán, M.C., Fernández, N., Molina, M.P. (2003b). Accuracy of BRT and Delvotest microbial inhibition tests as affected by composition of ewe's milk. *J. Food Prot.*, 66:473-478.
- Althaus, R.L., Berruga, M.I., Molina, A., Beltrán, M.C., Molina, M.P. (2007). BRT AiM inhibitor test for determining the occurrence of antibiotic residues in ewe milk. *Milchwissenschaft*, 62: 202-204.
- Barbosa, M. (1997). Occurrence of antibiotics in ewe and goat milk. Application and suitability of various test kits. Annex IV. Report. Analytical Week. Lisboa, Portugal.
- Barrios, M.J., Gualda, M.J., Cabanas, J.M., Medina, L.M., Jordano, R. (1996). Occurrence of Aflatoxin M₁ in Cheeses from the South of Spain. *J. Food Prot.*, 8: 898-900.
- Battacone, G., Nudda, A., Cannas, A., Cappio Borlino, A., Bomboi, G., Pulina, G. (2003). Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *J. Dairy Sci.*, 86: 2667-2675.
- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Pascale, M., Nicolussi, P., Pulina, G. (2005). Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *J. Dairy Sci.*, 88: 3063-3069.
- Battacone, G., Nudda, A., Rassa, S.P., Decandia, M., Pulina, G. (2012). Excretion pattern of aflatoxin M1 in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B1. *J. Dairy Sci.*, 95:2656-2661.
- Beltrán, M.C., Romero T., Althaus, R.L., Molina M.P. (2013). Evaluation of the Charm maximum residues limit B-lactam and tetracycline test for the detection of antibiotics in ewe and goat milk. *J. Dairy Sci.*, 96: 2737-2745.
- Beltrán, M.C., Borràs, M., Nagel, O., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2014a). Validation of receptor-binding assays to detect antibiotics in goat's milk. *J. Food Prot.*, 96: 2737-2745.

- Beltrán, M.C., Althaus, R.L., Berruga, M.I., Molina, A., Molina M.P. (2014b). Detection of antibiotics on sheep milk by receptor-binding assays. *Int. Dairy J.*, 34: 184-189.
- Beltrán, M.C., Berruga, M.I., Molina, A., Althaus, R.L., Molina M.P. (2015a). Performance of the current microbial tests for screening antibiotic in sheep and goat milk. *Int. Dairy J.*, 41: 13-15.
- Beltrán, M.C., Althaus, R.L., Berruga, M.I., Molina, A., Molina M.P. (2015b). Analytical strategy for the detection of antibiotic residues on sheep and goat's milk. *Spanish J. Agric. Res.*, 13: e05-001.
- Berruga, M.I., Molina, M.P., Novés, B., Román, M., Molina, A. (2007a). "In vitro" study about the effect of several penicillins during the fermentation of yogurt made from ewe's milk. *Milchwissenschaft*, 62: 303-305.
- Berruga, I., Battacone, G., Molina, M.P., Román, M., Molina, A. (2007b). Influence of B-lactams on Manchego cheese manufacture. Special Issue IDF, 0801, Part 1/3: 222-224.
- Berruga, M.I., Lozoya, S., Rubio, R., Castro, N., Molina, A. (2008a). Estudio sobre las posibles causas de la presencia de residuos de antimicrobianos en la leche de ovino y caprino. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MARM). 102 pp.
- Berruga, M.I., Novés, B., Molina, M.P., Román, M., Molina, A. (2008b). Influence of cephalosporins on the coagulation time of yoghurt made from ewes' milk. *Int. J. Dairy Tech.*, 61: 372-378.
- Borrás, M., Roca, M., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2013). Effect of storage and preservation of milk samples on the response of microbial inhibitor tests. *J. Dairy Res.*, 80: 475-484.
- Brambilla, G., Abate, V., De Filippis, S.P., Fulgenzi, A.R., Iamiceli, A.L., Mazzette, A., Miniero, R., Pulina, G. (2011). Polychlorodibenzodioxin and -furan (PCDD and PCDF) and dioxin-like polychlorobiphenyl (DL-PCB) congener levels in milk of grazing sheep as indicators of the environmental quality of rural areas. *J. Agric. Food Chem.*, 59: 8513-8517.
- Brusa, C.M., Safigueroa, M.S. (2005). Informes oficiales de laboratorios interprofesionales lácteos. *Albéitar*, 88:30-31.
- Caravaca, T. (2013). Dos millones de litros de leche contaminados por la aflatoxina. *Diario El Mundo*. Disponible en: <http://www.elmundo.es/andalucia/2013/11/28/52971de963fd3dc5318b458d.html>. Consultado el 09/06/2015.
- Contreras, A., Paape, M.J., Di Carlo, A.L., Miller, R.H., Rainard, P. (1997). Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual goats. *J. Dairy Sci.*, 80:1113-1118.
- Duarte, S.C., Lino, C.M., Peña, A. (2012). Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products. *Vet. J.*, 192: 286-292.
- Esnal, A., Gamillo, J.A., Marco, J.C., Rodríguez, L., Sopena, J., Martínez, F., Del Real, M.A., García, I., Ordóñez, J., Martín, S., Extramiana, A.B. (2002). Valoración práctica de un estudio de inhibidores y de recuento de patógenos contagiosos en leche de tanque de cuatro agrupaciones de productores de leche de oveja. *Actas VI Jornadas Internacionales de la SEOC*: 572-582.
- Fabre, J.M., Moretain, J.P., Ascher, F., Brouillet, P., Berthelot, X. (1995). Main causes of inhibitors in milk. A survey in one thousand French dairy farms. *IDF Bull*, 9505: 27-31.
- Ferrini, M.A., Trenta, S., Mannoni, S., Rosati, R., Coni, E. (2010). Depletion of long-acting ampicillin in goat milk following intramuscular administration. *J. Agric. Food Chem.*, 58:12199-12203.

- Flores-Flores, M.E., Lizarraga, E., López De Cerain, A., González-Peñas, E. (2015). Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Cont.*, 53: 163-176.
- Gamboa, P.M. (2009). The epidemiology of drug allergy-related consultations in Spanish allergology services: *Alergológica-2005*. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 9: 45-50
- Gonzalo, C., De Garnica, M.L., García-Jimeno, M.C., Asensio, J.A. (2012). Bulk milk antibiotic residue occurrence, somatic cell count and total bacterial count in dairy goat flocks. *Book of Abstracts XI International Conference on Goats (IGA)*: 228.
- Gonzalo, C., García, C., Linage, B., De La Fuente, L. (2013). Resultados de los programas de vigilancia analítica de la leche de tanque de los rebaños del consorcio: ocurrencia de inhibidores y aflatoxinas. pp. 48-54. *En: Programas de calidad, seguridad y certificación de la leche del consorcio de promoción del ovino*. Ed. Consorcio de Promoción del ovino. Zamora, España.
- Grundwald, L., Petz, M. (2003). Food processing effects on residues: penicillins in milk and yogurt. *Anal. Chim. Acta*, 483: 73-79.
- IARC. (1993). Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Monograph No. 56. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- Imperiale, F.A., Farias, C., Pis, A., Sallovitz, J.M., Lifschitz, A., Lanusse, C. (2009). Thermal stability of antiparasitic macrocyclic lactones milk residues during industrial processing. *Food Addit. Contam. Part A*, 26: 57-62.
- Kaneene, J.B., Ahl, A.S. (1987). Drug residues in dairy cattle industry: epidemiological evaluation of factors influencing their occurrence. *J. Dairy Sci.*, 70:2176-2180.
- Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.*, 8: 1-13.
- Licata, P., Di Bella G., Potortì A.G., Lo Turco V., Salvo A., Dugo G.mo. (2012). Determination of trace elements in goat and ovine milk from Calabria (Italy) by ICP-AES. *Food Add. Contam. Part B.*, 5: 268-271.
- Linage, B., Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Asensio, J.A., Blanco, M.A., de la Fuente, L.F., San Primitivo, F. (2007). Performance of Blue-Yellow screening test for antimicrobial detection in ovine milk. *J. Dairy Sci.*, 90:5374-5379.
- Marco, J.C., Extramiana, A.B, Sánchez, A., García, I., Contreras, A. (2001). Resultados sobre inhibidores en muestras de leche de tanque de productores de ganado caprino. *Actas V Jornadas Internacionales SEOC*: 225-229.
- Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Scharf, S., Gans, O. (2007). Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environ. Pollut.*, 148: 570-579.
- McEwen, S.A., Black, W.D., Meek, A.H. (1991). Antibiotic residue prevention methods, farm management, and occurrence of antibiotic residues in milk. *J. Dairy Sci.*, 74: 2128-2137.
- Molina, M.P., Segura, C., Luján, A., Althaus, R.L., Peris, C. (1999). Influencia del calentamiento y del tiempo de incubación sobre la respuesta del método BRT en la leche de cabra. *ILE*, 241: 37-40.
- Molina, A., Molina, M.P., Althaus, R.L., Gallego, L. (2003a). Residue persistence in sheep milk following antibiotic therapy. *Vet. J.*, 165: 84-89.
- Molina, M.P., Althaus, R.L., Balasch, S., Torres, A., Peris, C., Fernandez, N. (2003b). Evaluation of screening test for detection of antimicrobial residues in ewe milk. *J. Dairy Sci.*, 86: 1947-1952.
- Montero, A., Althaus, R. L., Molina, A., Berruga, I., Molina, M. P. (2005). Detection of antimicrobial agents by specific microbiological method (Eclipse 100) for ewe milk. *Small Rum. Res.*, 57:229-237.

- Novés, B., Librán, C.M., Licón, C.C., Molina, M.P., Molina, A., Berruga, M.I. (2015). Technological failures caused by cephalaxine on set-type sheep's milk yogurt. *CyTA – J. Food*, 13: 408-414.
- Pérez-Cobas, A.E., Gosalbes, M.J., Friedrichs, A., Knecht, H., Artacho, A., Eismann, K., Otto, W., Rojo, D., Bargiela, R., Von Bergen, M., Neulinger, S.C., Däumer, C., Heinsen, F-A., Latorre, A., Barbas, C., Seifert, J., Martins Dos Santos, V., Ott, S.J., Ferrer, M., Moya, A. (2012). Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut*, DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303184.
- Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R. (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother.*, 53: 28-52.
- Pietri, A., Piva, G. (2007). Aflatoxins in foods. *IJPH*, 4: 32-38.
- Roca, M., Castillo, M., Martí, P., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2010). Effect of heating on the stability of quinolones in milk. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 5427-5431.
- Romero, T., Beltrán, M.C., Pérez-Baena, I., Rodríguez, M., Molina, M.P. (2014a). Effect of the presence of colostrum on microbial screening methods for antibiotic detection in goats' milk. *Small Rum. Res.*, 121: 376-381.
- Romero, T., Beltrán, M.C., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2014b). Detection of antibiotics in goat's milk: effect of detergent on the response of microbial inhibitor tests. *J. Dairy Res.*, 81: 372-377.
- Romero T. (2015). Evaluation of false positive results in microbial inhibitor tests for screening antibiotics in goat milk. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Rosi, P., Bosari, A., Lasi, G., Lodi, S., Galanti, A., Fava, A., Girotti, S., Ferri, E. (2007). Aflatoxin M1 in milk: Reliability of the immunoenzymatic assay. *Int. Dairy J.*, 17: 429-435.
- Rubio, R., Berruga, M.I., Román, M., Molina, A. (2009). Evaluation of immunoenzymatic methods for the detection of aflatoxin M1 in ewe's milk. *Food Cont.*, 20: 1049-1052.
- Rubio, R. (2011). Incidencia de aflatoxinas en leche de oveja y derivados en Castilla-La Mancha. Tesis doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha.
- Rubio, R., Licón, C.C., Berruga, M.I., Molina, A. (2011a). Occurrence of aflatoxin M1 in the Manchego cheese supply chain. *J. Dairy Sci.*, 94: 2775- 2778.
- Rubio, R., Moya, V.J., Berruga, M.I., Molina, M.P., Molina, A. (2011b). Aflatoxin M1 in the intermediate dairy products from Manchego cheese production: distribution and stability. *Mljekarstvo*, 61: 283-290.
- Sánchez, A., Hernández, M., Luna, J., Moyano, G. M., Villanueva, M. J., Muñóz, E. (2001). Riesgos de residuos en leche debidos a tratamientos indebidos. XVIII Reunión de especialistas en control de mamitis y calidad de leche (G-Temcal). Lisboa, Portugal.
- Sierra, D., Sánchez, A., Contreras, A., Luengo, C., Corrales, J.C., Morales, C.T., de la Fe, C., Guirao, I., Gonzalo, C. (2009a). Detection limits of four antimicrobial residue screening tests for β -lactams in goat's milk. *J. Dairy Sci.*, 92:3585-3591.
- Sierra, D., Contreras, A., Sánchez, A., Luengo, C., Corrales, J.C., Morales, C.T., De La Fe, C., Guirao, I., Gonzalo, C. (2009b). Detection limits of non- β -lactam antibiotics in goat's milk by microbiological residues screening tests. *J. Dairy Sci.*, 92:4200-4206.
- Soriano, J.M. (2007). Micotoxinas en alimentos. Ed. Díaz de Santos. Madrid. 396 pp.
- Suárez, A., Terán, T., Garcia, J.J., Sierra, M., Fernández, N., Diez, M.J. (1998). Organochlorine pesticide residues in cheeses from León, Spain. *Tox. Environ. Chem.*, 67: 323-332.

- Tsiboukis, D., Sazakli, E., Jelastopulu, E., Leotsinidis, M. (2013). Anthelmintics residues in raw milk. Assessing intake by a children population. *Polish J. Vet. Sci.*, 16: 85–91.
- Viridis, S., Corgiolu, G., Scarano, C., Pilo, A.L., De Santis, E.P.L. (2008). Occurrence of aflatoxin M1 in tank bulk goat milk and ripened goat cheese. *Food Cont.*, 19: 44-49.
- Yamaki, M., Berruga, M.I., Althaus, R.L., Molina, M.P., Molina A. (2004). Occurrence of antibiotic residues in milk from manchega ewe dairy farms. *J. Dairy Sci.*, 87:3132-3137.
- Yamaki, M., Berruga, M.I., Althaus, R.L., Molina, M.P., Molina, A. (2006). Screening of antibiotic residues in ewes' milk destined to cheese by a commercial microbiological inhibition assay. *Food Addit. Contam.*, 23:660-667.
- Zorraquino, M.A. (1997). Validation of BRT-test: efecto del azidol y tiempos de incubación. Conferencia XIV Reunión de técnicos especialistas en control de mamitis y calidad de leche. Mallorca, España.
- Zorraquino, M.A., Roca, M., Fernández, N., Molina, M.P., Althaus, R.L. (2008). Heat inactivation of β -lactam antibiotic in milk. *J. Food Prot.*, 71: 1193-1198.
- Zorraquino, M.A., Althaus, R.L., Roca, M., Molina, M.P. (2009). Effect of heat treatments on aminoglycosides in milk. *J. Food Prot.*, 72: 1338-1341.
- Zorraquino, M.A., Althaus, R.L., Roca, M., Molina, M.P. (2011). Heat treatments effects on the antimicrobial activity of macrolide and lincosamide antibiotics in milk. *J. Food Prot.*, 74: 311-315.

MILK WITHOUT RESIDUES OR CONTAMINANTS: CONTROLS FOR A PRODUCTION RESPONSIBLE AND WITH QUALITY IN SMALL RUMINANTS

SUMMARY

This paper presents the problem of the presence of residues and contaminants in sheep and goat milk, addressed the consequences and main causes of their presence, and the control mechanisms necessary to ensure milk quality and safe for consumer.

Key words: residues, contaminants, antibiotics, mycotoxins, milk.

RODRÍGUEZ, M.* y FERNÁNDEZ, N.

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia

* mrodriguez@dca.upv.es

RESUMEN

En este trabajo se revisan las necesidades ambientales, la ventilación y el diseño de los alojamientos de cebo de corderos.

Palabras clave: cebo de corderos, necesidades ambientales, ventilación y alojamientos de cebo.

1. INTRODUCCIÓN

Los alojamientos constituyen un importante factor de producción en las explotaciones de cebo. Deben permitir el mantenimiento de unas condiciones ambientales higiénicas, asegurar el bienestar del ganado, facilitar las tareas de los operarios y el manejo de los animales.

Los resultados productivos dependen mucho de la capacidad del ganadero para mantener el nivel de confort fisiológico de los animales y a partir de ahí realizar una buena gestión de los problemas cotidianos (sanitarios, alimentación, manejo, etc.). A veces, esta gestión diaria es tan esmerada que los resultados pueden enmascarar ciertas deficiencias ambientales de los alojamientos.

2. CONDICIONES AMBIENTALES

Entre los factores ambientales más importantes de los cebaderos se pueden citar:

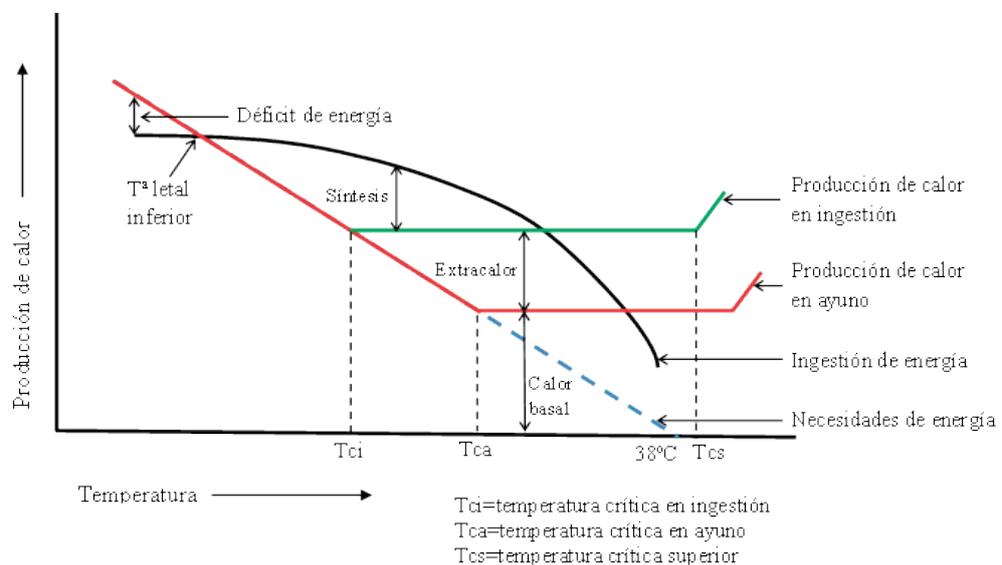
- La temperatura
- La humedad del aire

- La ventilación
- La superficie disponible por animal y el estado de la cama
- La longitud de comedero de pienso y de forraje
- La facilidad de acceso al agua (bebederos)

2.1. La temperatura.

Los corderos son animales homeotermos que mantienen su temperatura corporal dentro de unos estrechos límites, aunque la temperatura ambiental presente cambios importantes. Para ello realizan intercambios continuos de calor con el entorno y ponen en marcha mecanismos de adaptación, que les ayudan a regular la producción de calor.

Una forma de modificar la producción de calor es mediante la regulación de la ingestión de alimento, puesto que la digestión posterior produce calor. En la Figura 1 se representa la evolución de la ingestión de energía por el ganado y su producción de calor al variar la temperatura ambiental. Se observa que hay un rango de temperaturas en el cual los animales presentan la producción de calor mínima y no tienen necesidad de incrementarla para mantener su temperatura corporal. Es el intervalo de temperaturas termo-neutras, en el que se obtienen los mejores resultados productivos.

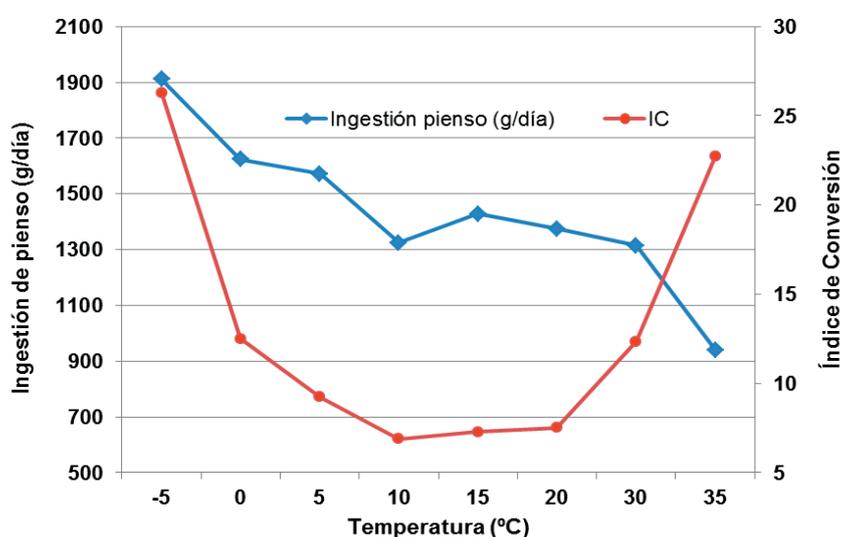


Fuente: Tomado de Fernández (1987).

Figura 1. Variación de la producción de calor en función de la temperatura.

En la Figura 2 se muestra la evolución de la ingestión de pienso en corderos de cebo y su índice de conversión (IC) para diferentes temperaturas. Se comprueba que la ingestión de pienso es máxima a temperaturas bajas y desciende progresivamente hasta una temperatura de 10°C. Entre 10 y 30°C el consumo de pienso se mantiene estable, pero

a temperaturas superiores (35°C) desciende. El IC evoluciona de forma distinta. Presenta los valores más bajos en el intervalo de 10 a 20°C y sus valores aumentan con temperaturas más bajas o más altas, llegando a alcanzar valores elevados en caso de temperaturas extremas (-5 y 35°C). Aunque los corderos de cebo son poco sensibles al frío, debido al aislamiento que le proporciona la capa de pelo y/o lana, cuando están expuestos a estrés térmico (caliente o frío) la ganancia media diaria de peso disminuye y la eficiencia de la conversión de nutrientes en tejidos también se reduce (Ames *et al.*, 1980). El intervalo de 10 a 20°C es una temperatura óptima para el cebo, lo que concuerda con los valores aportados por Fuentes (1985) y Daza (2002), que señalan el intervalo óptimo de 10-15°C y recomiendan no bajar de 8°C o subir de 27°C en el interior de los alojamientos.



Fuente: A partir de Ames y Brink, (1977).

Figura 2. Evolución de la ingesta de pienso y del Índice de Conversión con la temperatura ambiental del cebadero.

2.2. La humedad del aire.

El aire contiene una cantidad variable de vapor de agua que depende del clima y la época del año. Además en los cebaderos hay emisiones de vapor de agua que proceden de la respiración de los animales, de la evaporación del agua contenida en las deyecciones o en las camas. La principal fuente de humedad es la respiración de los animales. Ello se debe a que el intercambio de calor entre los animales y el ambiente se realiza de dos formas: una es el “calor sensible”, que es emitido por los animales y contribuye a aumentar la temperatura del alojamiento, la otra forma es el “calor latente” a través de la respiración y la sudoración, que no aumenta la temperatura ambiente. En las vías respiratorias se

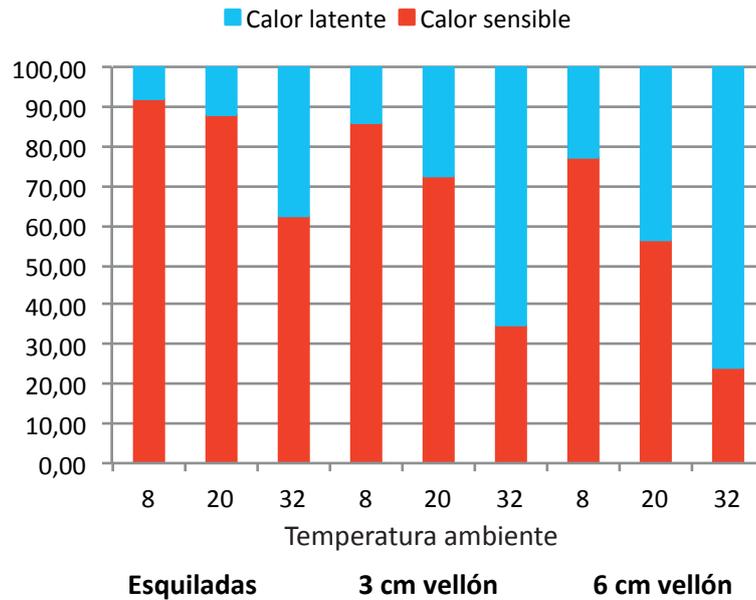
evapora agua que es espirada al exterior. Cada gramo de agua que se evapora absorbe 597 calorías para pasar del estado líquido a vapor y de este modo el animal pierde calor. También el sudor al evaporarse absorbe calor y refresca la piel. Así los alojamientos reciben de los animales un aporte constante de calor y humedad.

Al aumentar la temperatura ambiental, los corderos aumentan el ritmo respiratorio y sudan, aunque esta sudoración es menos importante que en otras especies como el vacuno. Sin embargo la menor sudoración es compensada por una mayor capacidad de jadear, realizando rápidos ciclos de inspiración y expiración que aumentan el flujo de aire y consiguen una refrigeración máxima (Fernández, 1987).

En ganado ovino las pérdidas de calor latente constituyen un mecanismo importante para la disipación indirecta de calor. En la Figura 3 se comprueba que a una temperatura de 8°C, la mayor parte de las pérdidas de calor se realizan en forma de calor sensible, tanto en ovejas esquiladas como en animales con 3 ó 6 cm de vellón. Con el aumento de la temperatura ambiental, las pérdidas de calor latente van adquiriendo más importancia, particularmente en los animales con mayor espesor del vellón. Probablemente la capa de lana dificulta la pérdida de calor sensible por conducción y convección y, por ello, la respiración y la sudoración son las principales vías de pérdida de calor. A temperaturas de 32°C las pérdidas de calor latente representan más del 75% de las pérdidas totales de calor.

Cuando las condiciones del ambiente son de alta temperatura y humedad no muy elevada, la pérdida de calor mediante la emisión de vapor de agua al ambiente resulta fácil para los animales, porque el aire admite ese vapor de agua, pero a medida que aumenta la humedad ambiental resulta más difícil eliminar calor latente porque el aire ya está cargado de vapor de agua. La pérdida de calor por evaporación se reduce con altos niveles de humedad en el ambiente, pero la refrigeración respiratoria todavía podría ser eficaz si la temperatura del aire inhalado es inferior a la temperatura corporal (Sparke *et al.*, 2001). Jadeando y sudando también se genera calor metabólico, lo que supone una carga adicional de calor (Bianca, 1968).

Esta situación problemática de altas temperaturas y elevada humedad relativa (HR) se da en días de verano en cebaderos situados cerca de la costa mediterránea. Los problemas son más graves cuando se manejan corderos de raza Merina, probablemente por su mayor espesor de vellón que en las razas entrefinas (Manchega o Segureña).



Fuente: A partir de Hellickson y Walker (1983).

Figura 3. Importancia relativa de las pérdidas de calor sensible y calor latente en ovejas con distinta longitud de vellón y a diferentes temperaturas.

En los alojamientos se recomienda que la humedad relativa sea mayor del 55% y que no pase del 80%. Se pretenden evitar por un lado los problemas de ambientes demasiado secos con la presencia de polvo y, por otro, la acumulación excesiva de vapor de agua que pueda crear la sensación de agobio y estrés térmico en los animales.

En zonas del interior peninsular, donde las altas temperaturas en verano van siendo cada vez más frecuentes y duraderas y la HR ambiental suele ser baja, se pueden utilizar sistemas de refrigeración evaporativa, combinando la actuación de nebulizadores de agua con removedores de aire que ayuden a evaporar el agua. Estos sistemas reducen la temperatura ambiente absorbiendo calor para evaporar agua, pero deben incorporar sensores de humedad para controlar el nivel de vapor de agua acumulado en el aire y evitar problemas de estrés térmico. Si no se controla la HR y el exceso de humedad ambiental no es eliminado, en vez de mejorar el nivel de bienestar térmico de los animales se produciría el efecto contrario. Sin embargo, en un cebadero bien ventilado, puede ser una alternativa interesante para el problema de las temperaturas elevadas.

Para evaluar el nivel de estrés por calor en los corderos, se proponen varias soluciones en la revisión realizada por Caulfield *et al.* (2014), como la medida de la temperatura rectal (es el más obvio), utilizar una escala lineal de puntuación en función del grado de jadeo de los animales

y utilizar el Índice Temperatura Humedad (THI) desarrollado en ganado vacuno, ya que no existe en ganado ovino.

En la Tabla 1 se han recogido los valores de producción de calor y vapor de agua (ésta en condiciones de invierno) por los corderos desde 10 a 50 kg, ya que en los últimos años se están produciendo en España corderos de pesos elevados.

Tabla 1. Producción de vapor de agua (en invierno), calor total y calor sensible (en invierno y en verano) en los corderos.

Peso (Kg)	Vapor de agua (g/h)	Calor total (Kcal/h)	Calor sensible invierno (Kcal/h)	Calor sensible verano (Kcal/h)
10	30	47	38	24
15	30	64	51	32
20	30	79	63	40
25	33	93	75	47
30	37,5	105	84	53
35	37,5	112	90	56
40	40	118	92	59
45	45	126	94	63
50	50	132	98	66

Fuente: La tabla ha sido elaborada a partir de Arieli et al., 2002; Barkai et al., 2002; Deng et al., 2012 y diversas revisiones bibliográficas (Fernández, 1987; Capdeville y Tillie, 1995; Caja y Rivas, 1988 y Daza, 2002).

2.3. La ventilación.

¿Qué hace?

La ventilación sustituye el aire del interior del cebadero cargado de contaminantes atmosféricos (CO₂, amoniaco, vapor de agua, malos olores y otros gases) y de calor (en verano) por aire del exterior. Tanto la ventilación como su regulación son los principales parámetros de control ambiental de un cebadero.

Los corderos tendrán una vida más confortable si los contaminantes atmosféricos son poco abundantes, la renovación de aire se realiza sin corrientes (en invierno particularmente) y donde el aire tenga una buena temperatura y un adecuado contenido en humedad. Además, es importante que el aire sea distribuido de forma uniforme, con el fin de evitar zonas del cebadero donde se formen bolsas de aire sin renovar (con acumulación de gases) y en cambio otras zonas pueden estar sometidas a corrientes de aire y cambios bruscos de temperatura (en invierno).

El mantenimiento de una buena calidad del aire en los alojamientos es esencial para que los animales estén sanos y para prevenir en lo posible que sufran enfermedades respiratorias o de otro tipo (Huffman, 2010).

Un buen sistema de ventilación garantiza no sólo una buena calidad del aire, sino que también protege los elementos constructivos de los daños causados por la humedad y las condensaciones, que llevan amoniaco diluido y corroen las estructuras (Capdeville y Tillie, 1995). Sin embargo, los problemas de ventilación son muy habituales en los cebaderos.

¿Cómo se calcula el caudal de ventilación?

Para calcular las necesidades de ventilación se consideran dos situaciones ambientales distintas: una de bajas temperaturas (invierno) y otra de temperaturas más altas (verano).

En invierno el objetivo es eliminar los gases contaminantes y utilizar el menor caudal de aire posible, para reducir la entrada de aire frío del exterior y conseguir una temperatura más alta en el interior del cebadero. El procedimiento de cálculo se basa en la capacidad del aire para retener vapor de agua. La cantidad de agua que puede contener un volumen específico de aire aumenta con la temperatura del aire. En la Figura 4 se observa que por cada 10°C que aumenta la temperatura del aire, se duplica la capacidad de retención de agua (aproximadamente).

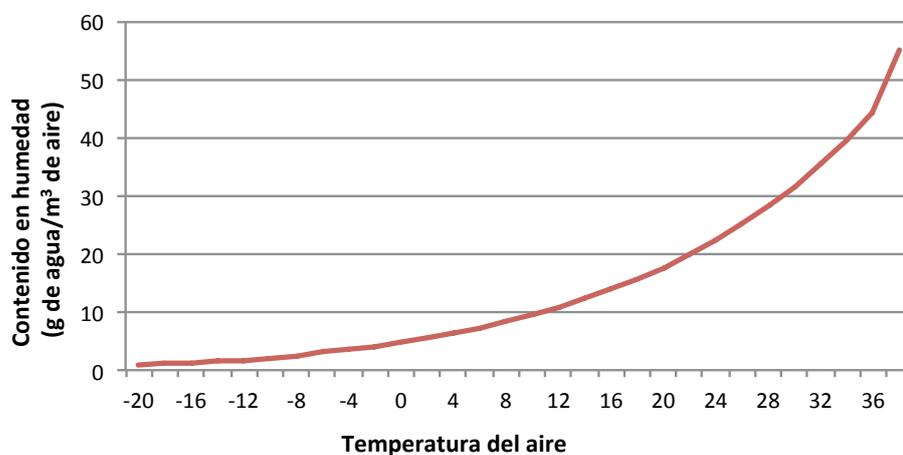


Figura 4. Evolución del contenido en vapor de agua que admite el aire hasta la saturación al aumentar la temperatura ambiente.

Así en invierno, cuando el aire fresco entra al interior del cebadero y es calentado, puede absorber el vapor de agua que se está produciendo y almacenarla en el ambiente hasta que el aire sea renovado de nuevo.

La expresión de cálculo para el Caudal de invierno es:

$$CI_{(m^3 \text{ de aire/h})} = \frac{\text{Vapor de agua producido por los cerdos (g/h)} \times 1,5}{(Hi - He) \text{ (g vapor agua/m}^3 \text{ aire)}}$$

El coeficiente 1,5 que está multiplicando la expresión se utiliza para tener en cuenta la emisión de vapor de agua procedente de las camas.

En la Figura 5 se representa la evolución del caudal de aire a renovar por cordero (25 kg) para distintas condiciones de temperatura exterior (0, 2 y 6°C) e interior del cebadero (de 6 a 18°C). Si nos fijamos en la temperatura exterior de 0°C, el caudal de ventilación disminuye (de 54 a 9 m³/h y cordero) a medida que aumenta la temperatura interior del cebadero desde 6 a 18°C. Esto es debido a que al aumentar la temperatura interior, también aumenta la cantidad de vapor de agua que admite el aire y se necesita extraer un menor volumen de aire interior para eliminar el vapor de agua producido. De forma similar se comprueba un descenso del caudal de ventilación con temperaturas exteriores de 2 y 6°C cuando la temperatura interior aumenta.

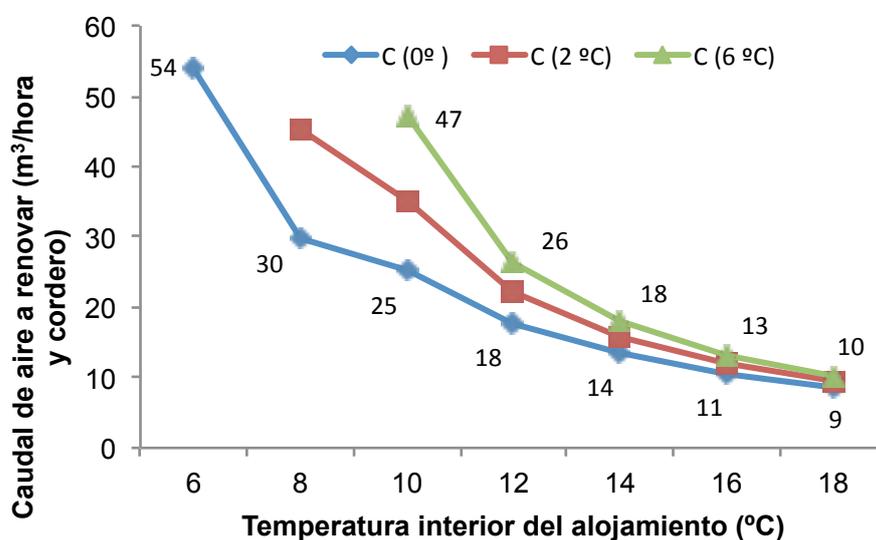


Figura 5. Variación del caudal de ventilación de corderos (25 kg) para diferentes temperaturas del exterior: 0, 2 y 6°C y del interior del cebadero.

Por lo tanto en invierno, cuanto mayor sea la temperatura interior del cebadero menor será el caudal de ventilación y habrá menos pérdidas de calor para calentar el aire frío que entra del exterior. Esto pone de manifiesto el interés de un buen aislamiento térmico del cebadero para reducir las pérdidas de calor y conseguir una temperatura interior más elevada.

También se observa que para una determinada temperatura interior, por ejemplo 10°C, al aumentar la temperatura del exterior el caudal de renovación es mayor porque el aire tiene más humedad. Sin embargo, a medida que aumenta la temperatura del interior se reducen las diferencias de caudal originadas por las temperaturas exteriores, haciendo posible expresar las necesidades de ventilación en invierno de forma aproximada como un valor medio único (independiente de

la temperatura externa). Así, para temperaturas comprendidas entre -4 y +6°C se pueden utilizar unos caudales de 0,6 y 0,4 m³/kg de peso vivo y hora en corderos con un peso menor de 25 kg y mayor de 25 kg, respectivamente.

En verano el problema es la acumulación de calor en el ambiente y el objetivo de la ventilación es eliminar el calor sensible emitido por los animales. La expresión para el cálculo del caudal es:

$$C_v(m^3/h) = \frac{\text{Calor producido (Kcal/h)}}{0,3(Kcal/^\circ C m^3) \times (t_i - t_e)(^\circ C)}$$

En la Figura 6 se representa la evolución del caudal de ventilación en verano al aumentar el peso de los corderos. Se comprueba que los caudales son mucho más altos que en invierno, por lo que los cebaderos abren puertas y ventanas para que circule el aire, sin temor a las corrientes de aire sobre los animales, tan perjudiciales en invierno.

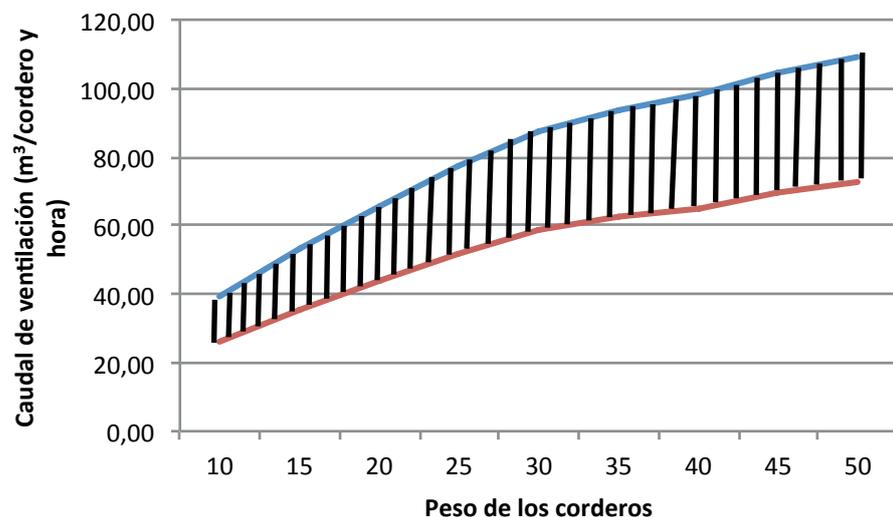


Figura 6. Evolución del caudal de ventilación (rango de variación) en verano con el aumento de peso de los corderos.

La ventilación natural de los cebaderos

La ventilación natural utiliza los fenómenos físicos de desplazamiento natural de las masas de aire: el efecto del viento y el efecto chimenea.

La acción del viento ejerce diferentes presiones sobre las paredes del cebadero sometiendo a una fachada a sobrepresión y a la opuesta a depresión. El efecto chimenea consiste en el desplazamiento de la masa de aire caliente que está en contacto con los animales (recibe el calor sensible que ellos emiten) y tiende a elevarse de forma natural, por ser menos denso que el aire frío procedente del exterior. Si hay aberturas en la cubierta, saldrá al exterior y así se crea una depresión dentro

del cebadero que arrastra la masa de aire hacia la salida y provoca la renovación del aire en el interior. El caudal de salida es mayor cuanto mayor sea la diferencia de temperaturas entre el interior y el exterior del cebadero y, también cuanto mayor sea la diferencia de altura entre los puntos de entrada y salida del aire. Éste parámetro depende del diseño del alojamiento.

El sistema de ventilación natural funciona bien en invierno, porque las diferencias de temperatura son más importantes, pero en verano no funciona bien porque las diferencias de temperatura se reducen mucho.

La importancia relativa del efecto del viento y el efecto chimenea en la ventilación del cebadero depende de la velocidad del viento. Cuando es mayor de 1 m/s el viento adquiere gran importancia en el movimiento de la masa de aire del alojamiento (Capdeville y Tillie, 1995).

La ventilación natural es el sistema habitual de ventilación en explotaciones de pequeños rumiantes, porque es el más económico y es capaz de conseguir unas condiciones ambientales adecuadas para estas especies, a pesar de sus limitaciones en verano. Para hacer un diagnóstico ambiental del alojamiento se debe realizar un chequeo del aislamiento térmico, de la tasa de renovación de aire, de los circuitos de aire, velocidad del viento, la temperatura, los niveles de humedad, amoníaco, dióxido de carbono, cantidad de polvo, nivel de luz y ruido (Aguilar *et al.*, 2006).

Parámetros a tener en cuenta en ventilación natural

Entre los parámetros a tener en cuenta en la ventilación natural están: la ubicación del cebadero, la orientación, el ancho de la nave, el diseño de las entradas y salidas de aire, la pendiente de la cubierta y el volumen estático construido (ITAVI, 1998).

La elección de la ubicación tiene una gran transcendencia. Se buscan terrenos sanos, protegidos de los vientos fuertes, pero aireados, secos y bien drenados, evitando obstáculos excesivamente próximos que puedan interferir en la ventilación. Se recomienda que la distancia del alojamiento a los árboles circundantes sea de 20 veces su altura. La distancia entre dos naves ha de ser como mínimo el ancho de la primera nave (en la dirección del viento) y lo aconsejable es que sea el doble del ancho de la nave. Un error frecuente es que no se respeten las distancias mínimas entre las naves y se dificulta la ventilación.

En verano, cuando el efecto chimenea no funciona bien, adquiere particular importancia la ubicación elegida para el cebadero, porque su ventilación depende del viento.

La presencia de árboles de hoja caduca cerca de la pared Sur del cebadero, si bien es cierto que su sombra ayuda a protegerse del calor del sol en verano, también es cierto que cuando caen las hojas y ramitas sobre la cubierta atascan los canalones y las bajantes de evacuación de agua de lluvia. Una buena capa de aislante en la cubierta es muy efectiva para reducir el calentamiento en verano, la pérdida de calor en invierno y evita ese problema. Además, los árboles sirven de cobijo para los pájaros, que posteriormente entrarán en los alojamientos. Es mejor que no estén cerca de las naves.

La orientación

El criterio más importante para la orientación del cebadero es la ventilación y, desde este punto de vista, el eje longitudinal de la nave ha de situarse perpendicular a la dirección del viento dominante. Para reducir el calentamiento de las paredes por la radiación solar, es preferible una orientación Este-Oeste del eje de la nave, pero el calentamiento se puede reducir utilizando materiales aislantes en la cubierta y paredes, mientras que una ventilación deficiente por una incorrecta orientación tiene consecuencias más graves.

Anchura del cebadero

En función de la anchura de la nave de cebo se plantean varias alternativas para la ventilación.

- Ventilación por ventanas: El desplazamiento de la masa de aire se realiza exclusivamente por efecto del viento. Se considera que con más de 12 m de ancho en un alojamiento, la ventilación no puede ser correcta en ausencia de aire. En estas condiciones se forman bolsas de aire cargadas de gases, vapor de agua y con temperaturas altas, que no son renovadas adecuadamente. No obstante, cebaderos de 12 m de ancho y ventilación por ventanas consiguen buenos resultados, pero la ubicación es importante. Algunos autores (Moreno y Buxadé 1998) aconsejan no utilizar alojamientos con más de 7-8m de ancho.
- Ventilación por ventanas y caballete en la cumbre: El desplazamiento de la masa de aire se realiza de forma combinada por efecto del viento y efecto chimenea. Este sistema permite una ventilación homogénea y temperaturas estables con anchuras de 12 a 15 m, aunque es posible utilizar naves más anchas hasta de 18 m (con pendiente superior al 35%). En zonas cálidas es más prudente no utilizar anchuras extremas.
- Cubiertas con ventilación intermedia: El desplazamiento de la masa de aire se realiza como en el caso anterior, de forma combinada

por efecto del viento y efecto chimenea. Sin embargo, las salidas de aire por la cubierta se realizan por el caballete y por unas rendijas que quedan abiertas a lo largo de la cubierta. En la Figura 7 se representan dos alternativas de este diseño. En la primera de ellas, las planchas de la cubierta no se unen unas sobre otras formando un cierre hermético, si no que se coloca un pequeño listón (de madera o metálico) en la zona de solape entre dos placas dejando una rendija de 5 cm a lo largo de la cubierta. De este modo la cubierta puede ventilar a través de los huecos que quedan en las uniones entre placas. El segundo diseño consiste en colocar dos naves adosadas con cubiertas a dos aguas como se observa en la Figura 7, con dos cumbres en las que se instala un caballete en cada una. Las rendijas entre placas de la cubierta se colocan sólo en las vertientes que dan al centro de la nave. Este diseño permite la ventilación natural en naves de mayor anchura que en los casos anteriores.

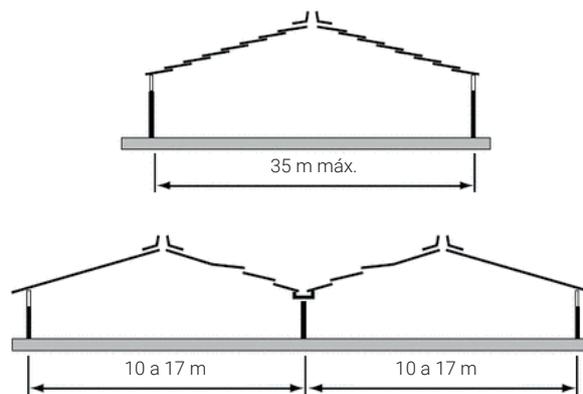


Figura 7. Cubiertas con ventilación intermedia.

Uno de los errores más frecuentes de los cebaderos es utilizar naves demasiado anchas para el sistema de ventilación instalado, bien sea a través de ventanas solamente o de ventanas y caballete.

Diseño de las entradas y salidas de aire

Las entradas de aire deben situarse a una altura de 1,5 a 2 m y han de ser regulables, para poder controlar el caudal de ventilación en invierno. Las recomendaciones para superficie de ventanas varían del 15 al 20% de la superficie construida y no deben situarse en los 2,5-3 m primeros junto a los muros piñones.

La salida de aire más habitual en los cebaderos es el caballete, cuyas anchura recomendable está comprendida entre un 5 y 6% del ancho de la nave (de 0,8 a 1 m). El caballete finaliza unos 2,5 a 3 m antes de llegar a los muros piñones, y debe disponer de un sistema de regulación de abertura, para controlar el caudal de ventilación en invierno.

Pendiente de la cubierta

La pendiente deberá ser aproximadamente un 40%, pero un alojamiento construido en un lugar expuesto puede ser del 35%.

El volumen del alojamiento

El volumen del alojamiento tiene una gran influencia en la calidad del ambiente, ya que amortigua las deficiencias de la ventilación natural. Las recomendaciones sobre el volumen estático construido en los cebaderos son de 3 a 5 m³/cordero, que pueden conseguirse con una altura de 5 m en los pilares de la nave. Ante cualquier deficiencia de la ventilación, ya sea porque la nave tiene demasiada anchura o porque las temperaturas son altas y el efecto chimenea no funciona bien, un volumen estático alto permite que se vayan acumulando gases y hace más difícil que el ambiente esté cargado. Es la solución utilizada cuando las naves son demasiado anchas. Por el contrario, un volumen bajo agrava los problemas ambientales ante una deficiencia de ventilación, aumenta la carga microbiana y acentúa los problemas sanitarios.

2. RESUMEN DE LAS RECOMENDACIONES AMBIENTALES

En la Tabla 1 se recogen los valores recomendados para diferentes variables que influyen en las condiciones ambientales de los cebaderos.

Tabla 2. Recomendaciones ambientales para los corderos de cebo.

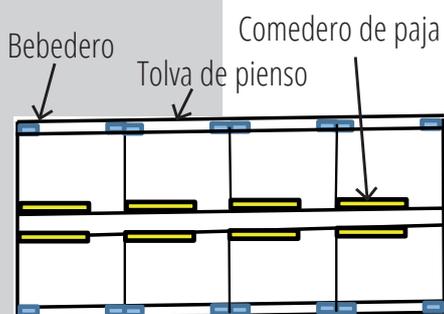
VARIABLES	Valores recomendados
Nº de animales/local	Óptimo ≤ 100. Es habitual de 100-200
Temperatura (°C)	10-20°C
Humedad relativa (%)	70-80
Amoniaco (ppm)	Óptimo menor 10. Es habitual 10-20 y más de 25 empieza a ser problemático.
Renovación de aire (m ³ /kg y hora)	Invierno: 0,6 y 0,4 para pesos ≤25 kg y mayores de 25 kg, respectivamente Verano: 2,75 y 2,25 para pesos ≤25 y mayores de 25 kg, respectivamente
Velocidad del aire (m/s)	Invierno: V<0,25 Verano: se busca conseguir velocidad de aire sobre los animales (4-5 m/s) para aumentar la pérdida de calor.
Volumen estático (m ³ /cordero)	3-5
Superficie (m ² /cordero)	0,4-0,5
Longitud comedero tolva (m/cordero)	0,05-0,06

Variables	Valores recomendados
Longitud comedero de paja (m/cordero)	0,04-0,05
Bebedero	Bebedero lineal: 0,01 m/cordero. Bebedero de cazoleta: 1 por cada 25-30 animales. Cada bebedero tendrá un desagüe para no mojar la cama. Debe existir una segunda conducción de agua para hacer tratamientos sanitarios en el agua.
Iluminación	Nº horas /día: 14-16 en cualquier época del año. Durante la noche dos periodos de iluminación de 35-40 minutos estimulan la ingestión. Intensidad: 60 lux.
Cama	De paja. Es importante su renovación frecuente para mantenerla seca. Se reducen las emisiones de gases, el vapor de agua y la carga microbiana.,

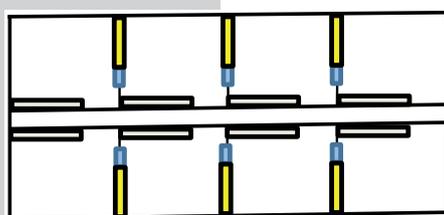
Fuente: La tabla ha sido elaborada a partir de diversas revisiones bibliográficas (García Vaquero, 1987; Caja y Rivas, 1988; Capdeville i Tillie, 1995; Torres y Fernández, 1998; Daza, 2002 y Bello et al., 2015).

3. EJEMPLOS DE DISEÑO DE CEBADEROS

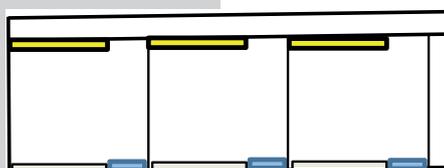
En los cebaderos, se considera un tamaño óptimo de los locales de unos 100 corderos, aunque es frecuente encontrar locales de 150 a 200 corderos. A continuación se describen algunos diseños de cebaderos (Figuras 8 y 9).



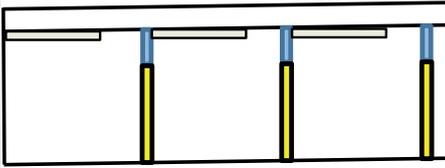
Nave con pasillo central de servicio y locales laterales. La profundidad de los locales es de 6 a 7 m (más los comederos) y el ancho total de la nave es de 16 a 18 m. Esta nave tiene unas dimensiones adecuadas para la ventilación natural por caballete. La limpieza del estiércol se realiza longitudinalmente, para todos los locales de un lateral conjuntamente.



En esta nave se han cambiado la disposición de los comederos, puede tener puertas laterales enfrentadas con cada local en los dos laterales o sólo en uno. Se facilita la ventilación en verano y la extracción del estiércol de forma individual para cada local.



Nave tipo vagón de tren. Con esta disposición es posible una anchura total de 10 a 12 m y ventilación por ventanas. Los locales son de mayor tamaño (150 a 200 corderos).



Si se pretende abrir puertas laterales se cambia la disposición de los comederos, los animales pueden disponer de un patio exterior, se mejora la ventilación y es posible acceder con el tractor a cada local individualmente, lo que facilita su limpieza.

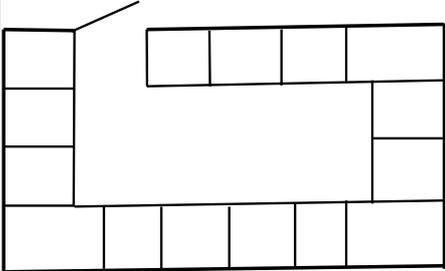
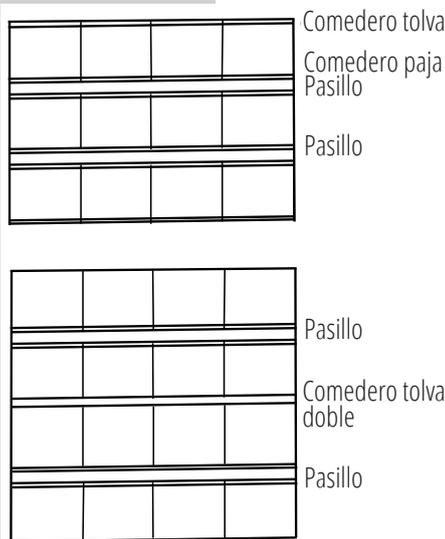


Figura 8. Diseños de cebaderos con una o dos filas de locales.

Una modificación de este tipo de diseño consiste en colocar los locales de cebo alrededor de un patio central, que sirve de pasillo de servicio y zona de ventilación. Sólo existe la pared del exterior (con ventanas), los locales (de 10 x 10m) están abiertos hacia el patio central donde disponen de una malla cortavientos que puede subir o bajar según las condiciones climáticas. La cubierta tiene pendiente hacia el exterior. Este diseño, está dando buenos resultados en zonas cálidas con elevadas temperaturas en verano.



Estas naves con 3 y 4 filas de locales de cebo tienen anchuras de 30 y 40 m. En ellas se puede utilizar una cubierta con el sistema de ventilación intermedia. Albergan muchos animales y resulta más difícil conseguir unas buenas condiciones ambientales que con naves más pequeñas.

Figura 9. Diseños de cebaderos con 3 y 4 filas de locales.

HOUSING OF LAMB FEEDLOTS

ABSTRACT

In this paper, environmental needs, ventilation and design of lambs feedlots bait lambs are reviewed.

Key words: lambs feedlots, environmental needs, ventilation and fattening facilities.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M., Maeztu, F.A. y Eguinoa, P. (2006). Control ambiental en instalaciones ganaderas de Navarra: Chequeo realizado por ITG Ganadero. *Navarra Agraria*, 158:39-56.
- Ames, D.R. y Brink, D. R. (1977). Effect of Temperature on Lamb Performance and Protein Efficiency Ratio. *Journal of Animal Science*, 44(1): 136-144.
- Ames, D. R., Brink, D.R. y Willms CL. (1980). *Adjusting Protein in Feedlot Diets during Thermal Stress*. 50 (1): 1-6.
- Arieli, A., Kalouti, A., Aharoni, Y. y Brosh A. (2002). Assessment of energy expenditure by daily heart rate measurement-validation with energy accretion in sheep. *Livestock Production Science*, 78: 99-105.
- Barkai, D., Landau, S., Brosh, A., Baram, H. y Molle, G. (2002). Estimation of energy intake from heart rate and energy expenditure in sheep under confinement or grazing condition. *Livestock Production Science*, 73: 237-246.
- Bello, J.M., Mantecón, A.R., Ruiz, S., Álvarez, C., Muñoz, V. y Lavin, P. (2015). Aproximación a un sistema del bienestar en cebaderos de corderos. Congreso de la SEOC (Castellón).
- Bianca, W. (1968). Thermoregulation. In: *Adaptation of Domestic Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, USA, pp. 97-118.
- Caja, C. y Rivas, F. (1988). Alojamientos e instalaciones en ganado ovino y caprino en régimen intensivo. En “*Bases para el diseño de alojamientos e instalaciones ganaderas*”. Asoc. Ing. Agrónomos Cataluña. Barcelona. 354 p.
- Capdeville, M.M.J. y Tillie, M. (1995). *L'ambiance dans les bâtiments d'élevage bovin, ovin, caprin & equin*. Ed. Institut de l'Élevage. Paris.64 p.
- Caulfield, M.P., Cambridge, H., Foster, S.F. y McGreevy, P.D. (2014). Heat stress: A major contributor to poor animal welfare associated with long-haul live export voyages. *The Veterinary Journal*, 199 (2): 223-228.
- Daza, A. (2002). *Mejora de la productividad y planificación de explotaciones ovinas*. Editorial Agrícola Española S.A. 232 p.
- Deng, K.-D., Diao, Q.-Y., Jiang, C.-G., Tu, Y., Zhang, N.-F., Liu, J., Ma, T., Zhao, Y.-G. y Xu, G.-S. (2012). Energy requirement for maintenance and growth of Dorper crossbred ram lambs. *Livestock Production Science*, 150: 102-110.
- Fernández, J. (1987). *Bioclimatología animal*. Ed. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 287 p.
- Fuentes Yagüe, J.L. (1985). *Climatización de alojamientos ganaderos*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- García Vaquero, E.(1987). *Diseño y construcción de alojamientos ganadero*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 238p
- Hellickson, Mylo A. y Walker, John N. (1983). *Ventilation of agricultural structures*. Ed. St. Joseph, Michigan : American Society of Agricultural Engineers. 372 pp.
- Huffman, H. (2010). *Ventilation de l'écurie. Fiche technique. Commande n° 10-060*. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales. Ontario.
- ITAVI. (1998). Les systèmes de ventilation. *Sciences et Techniques Avicoles*. Hors Série. 25-36.
- Moreno, R. y Buxadé, C. (1998). Alojamientos e instalaciones para lechones y cerdos de cebo. En: “*Bases de la Producción Animal. Alojamientos e instalaciones II*”. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 416 p.
- Sparke, E.J., Young, B.A., Gaughan, J.B., Holt, M. y Goodwin, P.J. (2001). Heat load in feedlot cattle. *Meat and Livestock Australia*, North Sydney, NSW, Australia.
- Torres, A. y Fernández, N. (1998). Alojamientos e instalaciones para Ganado ovino de leche. En “*Bases de la Producción Animal. Alojamientos e instalaciones II*”. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 416 p.

BELLO, J.M.

NANTA S.A. Ronda de Poniente, 9. 28460 Tres Cantos. Madrid (España).

RESUMEN

En el mercado ibérico se producen varios tipos de cordero distintos que requieren diferentes estrategias de alimentación. Pero además, a la hora de planificar el programa de alimentación de un cebadero, no solo hay que tener en cuenta el producto final, sino otros factores como la época del año y el sexo, así como la variación anual del estado de engrasamiento, que van a condicionar, no solo los resultados técnicos sino además el producto final. No debemos olvidar el enfoque productivo y los objetivos prioritarios de dicha explotación. A pesar de la variabilidad encontrada en los resultados de cebo, es posible predecir la respuesta técnico-económica a partir de los pesos de entrada y salida, dependiendo de sexo, genotipo y época del año.

TIPOS DE CORDEROS PRODUCIDOS EN ESPAÑA. OBJETIVOS PRODUCTIVOS

En el mercado ibérico se producen varios tipos diferentes de cordero que requieren criterios nutricionales diferenciados. Así, los animales procedentes de rebaños lecheros son sacrificados como lechales, con canales ligeras y habiéndose alimentado casi exclusivamente de leche materna o lactorremplazante (animales de 9 a 14 kg de peso vivo con canales entre 5 y 7 kg). Dentro de las canales ligeras nos encontramos con corderos procedentes de rebaños de carne pero sacrificados a bajos pesos y alimentados con leche y cereales (animales de 14 a 21 kg de peso vivo con canales entre 7 y 10 kg). Por otro lado, los corderos

procedentes de razas de carne, son cebados en régimen intensivo hasta pesos acordes con la demanda del consumidor, dependiendo también de la alometría de la raza. En este caso podemos distinguir entre diversos “genotipos” (ya que solo un porcentaje bajo de reproductoras están registradas en Libros Genealógicos) a saber: genotipo “cárnico” (raza Merina y cruces industriales de las razas autóctonas con machos mejorantes, sacrificios a 28-32 kg de peso vivo con 13 a 15 kg de canal) y genotipo “entrefino” (razas Rasa y Segureña, que, aunque diferentes, mantienen grandes semejanzas en cuanto al producto final, sacrificios de 24 a 28 kg de peso vivo, entre 10 y 13 kg de canal. La raza Manchega, aunque de vellón entrefino, podría ser incluida a estos efectos entre las cárnicas). De esta forma, el consumo de cordero cebado nacional pertenece en gran medida a estos dos grupos genotípicos que requieren distintas estrategias de alimentación.

Por otra parte en los últimos años estamos asistiendo al desarrollo de un mercado emergente: el mercado de “exportación”, basado en corderos machos, de razas cárnicas y llevados a elevados pesos, para ser exportados en vivo o en canal a países del entorno musulmán.

La importancia de cada uno de estos mercados se refleja en la Tabla 1 (sacrificios 2013 MAGRAMA).

Tabla 1. Importancia de tipos de corderos y fenotipos sacrificados en España en 2013.

PESOS CANAL	FENOTIPO/RAZA	ALIMENTACION	Nº ANIMALES
Menos de 7 kg	Lecheras/Autóctonas	Leche materna/LR	2.412.977
Entre 7 y 10 kg	Autóctonas carne	Leche/cereales	1.092.348
Entre 10 y 13 kg	Entrefino	Pienso y paja	3.847.079
Más de 13 kg	Cárnico	Pienso y paja	2.352.774
Exportación	Cárnico (Machos)	Pienso y paja	921.032

Fuente: MAGRAMA/ICEX.

Los 3 últimos grupos, se caracterizan porque los animales son cebados mayoritariamente en explotaciones industriales intensivas de multiprocedencia (corderos de diferentes orígenes). Todo esto configura un tipo de alimentación peculiar, diferenciada y adaptada para este tipo de explotaciones.

TIPOS DE PIENSOS UTILIZADOS

El sistema de alimentación utilizado habitualmente en las granjas de clasificación y/o cebo de corderos es el de pienso y paja, ambos a libre disposición, generalmente con suministro automatizado de pienso y manual de paja.

Por otra parte, dependiendo de la actividad prioritaria y del objetivo de la empresa ganadera los cebaderos se clasifican en:

- **Cebadero de clasificación.** Los animales son llevados ya prácticamente cebados, son clasificados a la entrada por pesos y se sacrifican en menos de 21 días. Suelen utilizar un único pienso para todo el periodo de estancia.
- **Cebadero de engorde de corderos.** Los animales se compran pequeños (al destete y en la mayor parte de los casos con pesos inferiores a 20 kg de peso vivo) y tras ser clasificados, son cebados hasta alcanzar el peso de comercialización. En determinadas épocas del año (primavera) entran en cebadero corderos procedentes de campo alimentados a base de forraje fundamentalmente (corderos “camperos”). Se considera que los animales permanecen más de 3 semanas en este tipo de explotaciones. La mezcla de animales intensifica y diversifica la carga microbiana, lo que favorece la patología digestiva y respiratoria característica de estas explotaciones. Por ello, en estas granjas se suelen emplear 2-3 tipos de pienso: pienso de adaptación (a veces es un estárter que estimula a los animales a comer antes o, en su caso, piensos fibrosos de adaptación de la dieta forrajera a la concentrada), pienso de cebo medicado y pienso de retirada.

Además hay que considerar que en algunos cebaderos se separan machos y hembras, con distintas exigencias a nivel de alimentación, por consiguiente el manejo de los piensos se complica teniendo en cuenta todas estas circunstancias descritas anteriormente.

Sobre un análisis efectuado en una base de datos de 127 productos comercializados en España (2001 a 2015) procedentes de 39 fabricantes a partir de valores nutricionales obtenidos a partir de analíticas vía NIR y valores de etiqueta, se puede observar en la Tabla 2 el perfil de los nutrientes de los piensos de corderos en España.

Tabla 2.- Valores nutricionales en piensos de corderos. Energía expresada en UFC según sistema de valoración de NANTA-CSIC a partir de ecuaciones INRA 2007. Fuente NANTA S.A.

NUTRIENTE	CONTENIDO EN PIENSO
% PB	15% a 20.4%
% FB	3.1% a 5.9%
% GB	2.9% a 4.5%
% Cenizas	5.1% a 7.4%
UFC	0.94 a 1.04

Desde el punto de vista zootécnico FEDNA hace una clasificación semejante en donde se detallan los resultados de los índices técnicos que se pueden esperar de cada uno de los tipos de cordero (Tabla 3).

Tabla 3. Índices zootécnicos de los diferentes tipos de cordero.

TIPO CEBO		CEBO LIGERO		CEBO PRECOZ
PESO CANAL (Kg)		8.5-11.5	11-14	13-15
RAZAS		Autóctonas	Autóctonas	Cruce Industrial o Extranjeras
APTITUD/FORMATO	APTITUD	Mixta	Carne/Mixta	Carne
	FORMATO	Pequeño	Medio/Grande	Grande
PESO ADULTO (Kg)	MACHOS	65	85	115
	HEMBRAS	45	60	85
PESO DESTETE (Kg)		12-15	14-16	16-18
PESO SACRIFICIO (Kg)	MACHOS	20-24	24-28	30-35
	HEMBRAS	18-22	21-25	25-30
CRECIMIENTO (GMD)(gr/día)	MACHOS	250-290	280-350	360-420
	HEMBRAS	220-250	230-270	290-340
CONSUMO DIA (CMD) (gr/día)		750-800	850-900	950-1050

Fuente: FEDNA 2008.

En relación con las materias primas utilizadas, generalmente los piensos se formulan con cereales y soja, con poco margen para subproductos. En FEDNA (www.fundacionfedna.org) se puede encontrar información sobre límites de ingredientes para formulación de piensos de corderos.

En la Tabla 4 se detallan los niveles nutricionales recomendados (porcentaje de proteína y bruta y energía en unidades forrajeras carne según INRA 2007) de los piensos.

Tabla 4. Valores nutricionales en piensos por fenotipo y sexo. Energías expresadas en UFC según ecuaciones INRA 2007.

		% PB	UFC
CARNICO	MACHOS	18.0%	1.02-1.04
	HEMBRAS	17.0%	1.00-1.02
	UNICO	17.5%	1.01-1.03
ENTREFINO	MACHOS	17.5%	1.00-1.02
	HEMBRAS	16.5%	0.98-1.00
	UNICO	17.0%	0.99-1.01
EXPORTACIÓN		16%	0.94-0.96

Fuente: NANTA S.A.

Lógicamente, sobre estas recomendaciones estrictamente nutricionales, habrá que valorar y sopesar los ENFOQUES PRODUCTIVOS de cada

cebadero, que pueden ser distintos a lo largo del año o dependiendo de las circunstancias.

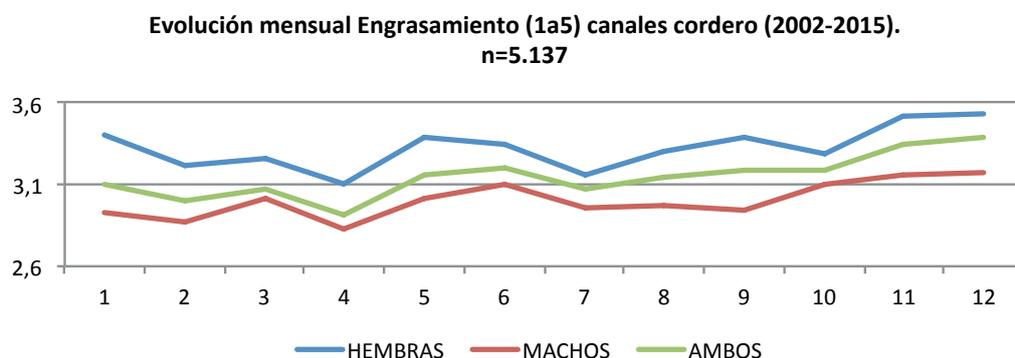
ENFOQUES PRODUCTIVOS

El objetivo principal de un cebadero de corderos es, principalmente, la comercialización de animales, en vivo, canal o despiece. La actividad ganadera implica la compra, clasificación y, en su caso, cebo de los corderos, para obtener un producto lo más homogéneo posible acorde con la calidad que el consumidor final exige. Para conseguir este objetivo, es conveniente definir el enfoque productivo de cada explotación y adaptar la alimentación convenientemente.

Dichos enfoques son, preferentemente (aunque lo normal es que se pretendan alcanzar varios de estos objetivos a la vez, es lógico que se prioricen los más importantes en cada caso):

- **Obtención de buenos índices técnico/económicos de cebo.** Alimentación orientada a conseguir altas ganancias de peso con el menor consumo posible sin caer en excesivo engrasamiento. Máximas concentraciones energéticas y proteicas en los piensos.
- **Alta seguridad ruminal.** En situaciones de baja calidad sanitaria, alta incidencia patológica o bajas cotas de bienestar animal (densidad, estrés, temperaturas...) o chequeos de pH ruminal en matadero. La alimentación se orientará a niveles de fibra más altos y al empleo de aditivos amortiguadores ruminales.
- **Óptima calidad de carne.** Sobre todo velando por el adecuado engrasamiento de las canales. En determinadas épocas (otoño) y cuando los chequeos de matadero así lo aconsejen. La reducción de energía y grasa añadida fundamentalmente serán medidas obligadas en el diseño de la alimentación. En El Gráfico 1 se observa la variación del estado de engrasamiento a lo largo del año en 5.137 animales (2002-2015) por sexos.
- **Mejora de rendimiento canal.** Orientado a la reducción de gastos fijos en matadero, consiguiendo más cantidad de carne por animal sacrificado. La alimentación irá encaminada a favorecer el engrasamiento de las canales, dentro de los límites de la aceptabilidad comercial. El pienso deberá llevar más energía en base a grasa bruta, y menos contenido proteico.

Gráfico 1. Evolución del estado de engrasamiento de canales de cordero (1 a 5), por sexos en matadero. Toma de datos (n=5.137) desde 2002 a 2015.



Fuente: NANTA S.A.

En la Tabla 5, proponemos algunos perfiles de piensos orientados a estos enfoques descritos (para machos y hembras conjuntamente):

Tabla 5. Valores nutricionales en piensos por enfoque productivo. Energías expresadas en UFC según ecuaciones INRA 2007.

ENFOQUE PRODUCTIVO	P.B.	F.B.	G.B.	UFC.
INDICES TÉCNICOS	17.5%-18.5%	3%-4%	3.5%-4.5%	1.02-1.04
SEGURIDAD RUMINAL	17%-18%	3.5%-4.5%	2.5%-3.5%	0.98-1.00
REDUCCION ENGRASAMIENTO	16%-16.5%	5%-6%	2.2%-2.7%	0.94-0.96
RENDIMIENTO MATADERO	16%-16.5%	3.5%-4%	4.5%-5.5%	1.03-1.04

Fuente: NANTA S.A.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LOS ÍNDICES TÉCNICOS

Para poder medir el resultado técnico económico del cebo de corderos, los índices más comúnmente empleados son la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC) definido como la cantidad de pienso necesaria para reponer un kilogramo de carne.

Para poder cuantificar la incidencia de algunos de los factores más importantes que afectan a dichos índices se realizó un estudio de 364 ensayos de cebo (1992-2011) en 64 explotaciones (España y Portugal) con más de 15.097 controles de peso y 20 marcas de pienso diferentes. El trabajo analizaba la variabilidad de los resultados de cebo según las variables sexo, genotipo (cárnico y entrefino) y época del año (invierno y verano) y la influencia de factores relacionados como son la energía del pienso y los pesos de entrada y salida. El trabajo fue publicado en la edición de la SEOC de 2013.

- **Influencia de los pesos de entrada y salida de los animales.** En principio, y dentro de los rangos de pesos producidos en el mercado ibérico, no presentan gran influencia en las ganancias de peso, pero sí en los consumos de pienso necesarios para reponer carne. Hay más significación estadística en la influencia del peso de salida sobre el IC pero influye más el peso de entrada en los resultados obtenidos, aumentando el IC a medida que lo hacen ambos.
- **Influencia de la época del año.** Generalmente los consumos aumentan en invierno y disminuyen en verano. Es por ello que se suele aumentar la concentración energética del pienso en verano para paliar esta circunstancia (diferencias significativas de energías utilizadas en ambas épocas en nuestro estudio). Seguramente gracias a ello se pueden paliar las diferencias desfavorables que el calor puede suponer en la eficiencia productiva como consecuencia de variaciones en la ingestión.
- **Influencia del genotipo.** Los genotipos cárnicos no influyen en el consumo de pienso a un mismo peso vivo, pero sí que tiene gran influencia en las GMD y por consiguiente también en el IC.
- **Influencia del sexo.** Los machos ingieren más pienso que las hembras y consiguen mejores GMD (además de tener cebos significativamente más largos). Las hembras obtienen generalmente mayores IC.
- **Influencia de la energía del pienso.** Generalmente, mayores energías consiguen mejores GMD pero dada la gran variabilidad en los animales (sanidad y estado de engrasamiento) no siempre hay diferencias significativas. Pero mayores energías obtienen significativamente menores consumos para una misma GMD por lo que mejoran el IC.

En la Tabla 6 resumimos los efectos de estas variables en los Índices Técnicos estudiados.

Tabla 6. Resumen resultados análisis de varianza (SPSS) con pesos de entrada y salida como covariables.

FACTORES	Peso Entrada	Peso salida	GMD	IC	Días en cebo	Ingesta
Peso Entrada			ns	**	***	***
Peso salida			ns	***	***	***
Estación	ns	**	ns	ns	+	ns
Genotipo	*	**	***	*	+	ns
Sexo	***	***	***	***	**	**

ns ($p > 0,05$), + ($p < 0,10$), * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$),
Fuente: NANTA y CSIC de León.

PREDICCIÓN DE RESULTADOS TÉCNICOS EN UN CEBO DE CORDEROS

A la hora de intentar predecir los resultados técnico-económicos de un cebo de corderos hay que tener en cuenta en primer lugar la gran variabilidad de los resultados, que es causa, como ya se ha apuntado, de la heterogeneidad sanitaria y de manejo (alimentación, pluviometría etc) de las explotaciones de origen.

No obstante, el trabajo al que hemos hecho alusión anteriormente nos permite hacer predicciones en el cálculo del índice de conversión mediante análisis de regresión múltiple, a partir de los valores del peso inicial y final de los corderos. En la Tabla 7 se presentan los valores de los coeficientes de regresión de las ecuaciones para el conjunto de los datos, así como para cada uno de los grupos establecidos para los factores de variación considerados. A modo de ejemplo, para un peso vivo final establecido (24 kg) el índice de conversión fue de 2,7; 3,0; 3,3 y 3,5 para un peso inicial de 14, 17, 20 y 23 kg, respectivamente.

Tabla 7. Ecuaciones de predicción ($y = a x_1 + b x_2$) del índice de conversión (IC, kg de pienso/kg ganancia de peso) en función del peso inicial (x_1 , kg) y del peso final (x_2 , kg).

	a ± e.s.	b ± e.s.	R ²
Genotipo cárnico	0,095±0,0089	0,058±0,0068	0,9760
Genotipo entrefino	0,101±0,0138	0,055±0,0104	0,9761
Invierno	0,089±0,0114	0,064±0,0087	0,9742
Verano	0,101±0,0098	0,052±0,0074	0,9781
Lotes machos	0,082±0,0080	0,059±0,0059	0,9880
Lotes Hembras	0,096±0,0233	0,074±0,0186	0,9742
Lotes Machos y Hembras	0,093±0,0111	0,061±0,0083	0,9761
TOTAL	0,097±0,0075	0,057±0,0057	0,9761

Fuente: NANTA S.A. y CSIC de León.

BIBLIOGRAFÍA

- INRA (2007). Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Paris (Francia).
- FEDNA (2008). Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo. Normas FEDNA. Ed.-Fundación española para el desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid (España).
- Bello, J.M., Arroyo, G., Lavin, P; Mantecón, A.R. Variaciones en la respuesta productiva de corderos en cebo en condiciones prácticas de explotación: efecto del peso vivo, sexo, genotipo y época. XXXVII Jornadas Científicas SEOC, Málaga (España).

Bello, J.M.; Calvo, R.; Escartin, F.; Lavin, P.; Mantecón, A.R. Variación en el pH ruminal al sacrificio de corderos tipo ternasco. Efecto de la época del año, la alimentación y el tiempo de espera previos al sacrificio. XXXIV Jornadas Científicas SEOC, Valladolid (España).

LAMBS FEEDING BAIT

SUMMARY

Several kinds of lamb are being currently produced in the Iberian market and all of them require different nutritional strategies. Sex, season of the year, genotype, fattening score and priorities should be kept in mind when we have to plan the management of the farm to obtain not only a good product but also good profitability. In spite of the big variability in fattening lambs trials, we can predict technical and economical performances from the initial and final body weight, depending on the sex, genotype and season.

MONOGRÁFICO CEBO: INSTALACIONES, ALIMENTACIÓN Y SANIDAD

LA PRODUCCIÓN DE CORDEROS DE CEBO EN ESPAÑA. ASPECTOS SANITARIOS MÁS RELEVANTES

GONZÁLEZ, J. M.

Gabinete Técnico Veterinario, SL.

Isla Conejera, sn. 50014 Zaragoza (España).

jmgsovino@gmail.com

RESUMEN

La gran mayoría de los corderos producidos en España son cebados y sus resultados productivos derivan de la interacción de varios factores como el manejo, las instalaciones, la alimentación y la sanidad. En este documento se revisan los aspectos relacionados con la sanidad, empleando para ello información obtenida en la clínica diaria. Se exponen los datos sobre la dinámica de la presentación de síntomas de coccidiosis y complejo respiratorio ovino durante el cebo, principales patologías observadas, describiendo la asociación entre ambas. El CRO es la principal causa de muerte durante el cebo en todas las situaciones, si bien, existen diferentes formas de presentación que presentan diferencias en cuanto a la etiología. Esta patología, íntimamente ligada con situaciones de inmunodepresión, se ve favorecida por enfermedades como el ectima contagioso, la infección por virus border y la coccidiosis que están presentes en más del 40% de las corderos necropsiados. Por último, se presentan ejemplos de cómo la patología causa una reducción del potencial productivo de los corderos de cebo en aspectos como los crecimientos, los decomisos o la calidad del producto final.

Palabras clave: cebo de corderos, complejo respiratorio ovino, coccidiosis, inmunodepresión, border disease.

INTRODUCCIÓN

En España, los corderos tradicionalmente se han vendido bajo dos tipos comerciales muy diferenciados: lechales y corderos de cebo. Los primeros son alimentados, casi exclusivamente, con leche materna o lactorreemplazantes y provienen de razas de aptitud lechera, aunque en determinadas épocas o circunstancias de mercado también proceden de razas de aptitud cárnica. Estos corderos se caracterizan por canales muy ligeras, inferiores a los 7 kg canal, y edades inferiores a los dos meses de edad en el momento del sacrificio.

Los corderos de cebo son los más numerosos, representando por encima del 75% de los corderos producidos en España (gráfico 1). Este grupo resulta muy heterogéneo y en esencia, lo podríamos definir como todos aquellos animales que tras haber sido destetados han recibido alimentos con una alta concentración nutritiva, lo que ha permitido un crecimiento elevado durante un periodo más o menos largo en función de su raza, sexo y destino. En este grupo se engloban tanto los corderos que son sacrificados con pesos superiores a los 7 kg canal como aquellos que son exportados en vivo y los animales de reposición. En estos últimos puede existir una mayor controversia, si bien en su inmensa mayoría cumplirían la premisa de recibir un pienso rico en nutrientes al menos en la primera parte de su vida.

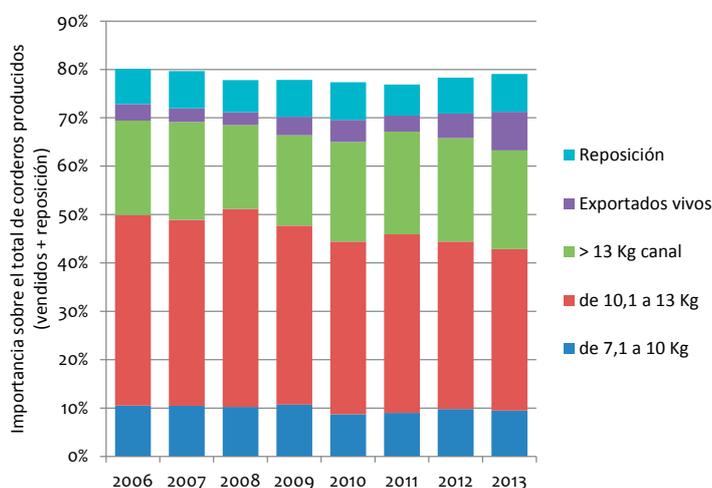


Gráfico 1. Importancia relativa de las distintas categorías de corderos cebados en España sobre el total de corderos producidos (vendidos + reposición), evolución periodo 2006-2013 (MAGRAMA 2015).

La climatología, en especial la escasa pluviometría y las elevadas temperaturas, provoca que la producción forrajera resulte insuficiente para llevar a cabo el cebo exclusivamente con forrajes (Huyghe and others 2014). Por ello, en la mayoría de las ocasiones el cebo de los corderos se lleva a cabo mediante el aporte de concentrados y forrajes

a voluntad en condiciones de estabulación permanente (Cavini and others 2015). Sin embargo, existen experiencias que demuestran que resultados similares pueden ser obtenidos en condiciones favorables de pastoreo con una suplementación adecuada y alargando el periodo de amamantamiento (Joy and others 2009). Esto último se produce de forma natural durante ciertas épocas del año en las explotaciones del suroeste español, en especial en zonas de Extremadura y Andalucía, conociéndose estos corderos como “corderos pasteros”.

Las instalaciones donde se lleva a cabo el cebo pueden estar dentro de la misma explotación donde nacieron los corderos o bien ser completamente ajena a ella. Estas últimas reciben el nombre de cebaderos donde los corderos permanecerán un periodo más o menos largo dependiendo principalmente del peso de entrada y el peso de sacrificio. Este periodo suele ser superior al mes y por lo general inferior a los tres meses. En otras ocasiones, los cebaderos actúan únicamente como centros de concentración y homogenización de la oferta en los que los corderos permanecen periodos de tiempo muy cortos, inferiores al mes.

Por lo general, los cebaderos cuentan con una capacidad elevada, permitiendo albergar los animales procedentes de varias explotaciones. Esto desarrolló un importante comercio de corderos recién destetados. Los corderos que son llevados a cebadero suelen proceder de zonas con un importante censo de hembras de aptitud cárnica y son transportados a zonas más cercanas a los grandes mercados consumidores (Aragón, Cataluña, Levante y Madrid). En ocasiones, se transportan a los corderos recién destetados a grandes distancias como las rutas desde Extremadura, Andalucía y Castilla La Mancha hacia zonas del Valle del Ebro, el Levante y algunas zonas de Castilla La Mancha. Estos flujos se mantienen en la actualidad, si bien la importancia relativa de los mismos ha disminuido por la creación de grandes cebaderos en las zonas donde se asientan las madres de producción cárnica.

El destete y el cambio de alimentación (paso de leche a concentrados) suponen importantes factores de estrés que sufren todos los corderos cebados. Además, los corderos que son transportados a los cebaderos suman el estrés originado por el transporte y la mezcla con otros corderos de diferentes orígenes, edades, microbios y estatus sanitarios. A estos factores estresantes se les deben añadir otros factores ligados al manejo, la alimentación y las instalaciones que van a ser tratados en esta misma mesa redonda por otros ponentes.

El estrés y su magnitud, por lo tanto, serán puntos clave a la hora de entender las patologías que nos vamos a encontrar durante el cebo de corderos. La inmunodepresión que genera será aprovechada por

agentes infecciosos, generalmente, presentes en los animales sanos para desencadenar patologías. Además, un porcentaje de los animales que alcanzan el cebo ya presentan síntomas clínicos por lo que en ellos la caída de la inmunidad puede provocar un agravamiento de las diferentes enfermedades. Este hecho, se debe tener en cuenta pues estos corderos pueden actuar como fuente de contagio en algunas patologías.

PATOLOGÍAS MÁS FRECUENTES DURANTE EL CEBO

Para determinar las principales patologías que se producen durante el cebo de los corderos se llevó a cabo un estudio observacional, durante un año completo, con un total de 1.243 corderos de raza Rasa Aragonesa pertenecientes a cinco explotaciones distintas. Estos corderos fueron monitorizados clínicamente desde el nacimiento determinando: las patologías presentes, el momento de aparición de síntomas, la duración de los mismos y los crecimientos. En caso de muerte los corderos fueron necropsiados y su causa de muerte determinada. En el momento del destete y durante todo el periodo de cebo 1.121 fueron transportados a un cebadero donde se alojaron con los corderos procedentes de las otras explotaciones. El seguimiento se realizó hasta el momento del sacrificio estudiando las canales y la presencia de lesiones en matadero.

En el momento del destete, un total de 173 corderos (14,09%) presentaron síntomas y las principales patologías observadas fueron diarreas compatibles con coccidiosis (143 corderos, 12,76%) y síntomas de patología respiratoria (15, 1,34%). Cabe destacar que cinco corderos presentaron síntomas de ambas enfermedades a la vez, esto representó que el 33% de los corderos con síntomas respiratorios tenían también diarrea compatible con coccidiosis. Además, se observaron síntomas en otros 20 corderos, las patologías asociadas a ellos fueron muy numerosas como músculo blanco, ectima, fracturas, queratitis, poliartritis y onfalitis. Así pues, las principales patologías presentes al momento de entrada en cebo fueron la coccidiosis y el complejo respiratorio ovino (CRO).

La evolución de las dos principales patologías queda recogida en el gráfico 2. El pico máximo de incidencia de la coccidiosis se alcanza al final de la primera semana de cebo mientras que en el caso del CRO esto se produce en la tercera semana. Durante el cebo 371 (33,10%) corderos presentaron síntomas de coccidiosis mientras que 99 (8,83%) mostraron síntomas de CRO. Es importante resaltar que el 38,54% de los animales que mostraron coccidiosis durante el cebo ya la presentaba a la llegada al cebadero, pero sólo un 15,15% de los corderos de CRO los tenían a la llegada. Esto puede ser el reflejo de dos patrones de enfermedad, el primero representado por la coccidiosis se desencadena

por el estrés (pico de nuevos casos a la primera semana), es muy rápido y en él los corderos enfermos a la llegada juegan un papel importante al incrementar la carga infecciosa. Esto hace que el 91,22% de los corderos que desarrollan síntomas de coccidiosis tras llegar al cebadero lo hagan durante las dos primeras semanas de estancia en el cebadero. Por el contrario, el CRO tiene una presentación más lenta y durante ese mismo periodo de tiempo únicamente desarrollan síntomas el 38,54% de los nuevos casos de CRO. Estos patrones de presentación tienen una importante implicación práctica en la confección de los planes sanitarios a implantar.

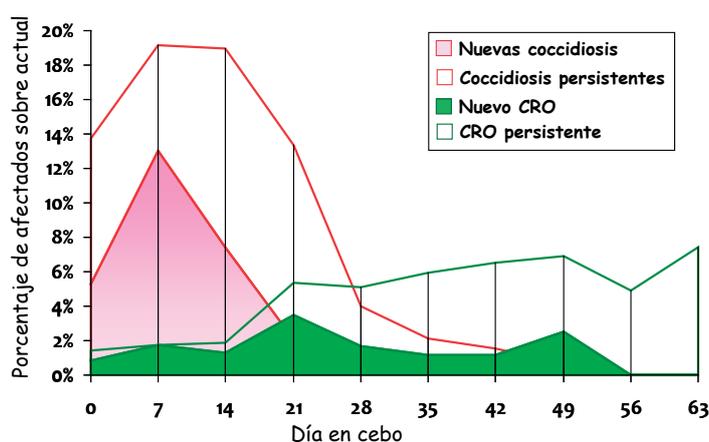


Gráfico 2. Evolución de la coccidiosis y el CRO durante el periodo de cebo calculado sobre el total de corderos presentes en cada momento. Se puede apreciar un pico de nuevas coccidiosis y nuevos CRO a la semana de entrada en cebo. Mientras que en CRO se vuelve a presentar un segundo pico de nuevos CRO a la tercera semana de entrada.

Otro punto importante es que los animales con coccidiosis tuvieron 1,84 veces más riesgo de presentar síntomas de CRO que aquellos que no la mostraron ($p=0,004$). Así, el 12,94% de los corderos que presentaron coccidiosis (48/371) desarrollaron también síntomas de CRO, frente al 7,47% (50/669) de los que no tuvieron coccidiosis. Esto fue especialmente importante entre los casos de nuevas coccidiosis y la presentación de CRO ($p=0,005$). Para determinar la dinámica de presentación de los síntomas se observó la aparición de síntomas de CRO determinando el tiempo transcurridos desde los primeros síntomas de coccidiosis. Se apreció un incremento de casos de CRO dos semanas después de ese momento ($p<0,05$), el riesgo fue 2,12, 1,13 y 1,82 veces mayor para las dos semanas frente a aparición simultánea de síntomas, una semana después o tres semanas después respectivamente. Esta asociación puede ser consecuencia de la inmunodepresión inducida por la coccidiosis, la cual es especialmente intensa durante la fase asexual del ciclo del

coccidio (Wright and Coop 2008) por lo que es anterior a la presentación de la diarrea.

Enfermedades especialmente importantes van a ser aquellas que provocan inmunodepresión durante el cebo, entre ellas destacan otras parasitosis digestivas que afectan casi en exclusiva a los corderos pasteros y procesos víricos como el ectima contagioso (Nandi and others 2011) y la infección por virus border. Este último, tradicionalmente asociado a problemas reproductivos, supone un riesgo importante en los cebaderos ya que se transmite rápidamente entre los corderos e incrementa el riesgo de presentación de síntomas respiratorios y digestivos (González and others 2014). En la práctica, el papel del border disease virus en los cebaderos es especialmente importante durante la primavera, tal vez ligado a presencia de mayor proporción de corderos provenientes de hembras de primer parto. Esto puede ser debido a que los animales de primer parto son más susceptibles a la infección en una situación endémica como la de España.

PRINCIPALES CAUSAS DE MUERTE DURANTE EL CEBO

A la hora de plantear los planes preventivos es esencial conocer las causas que originan la muerte de los corderos y su importancia. El CRO provoca la mayoría de las muertes durante el cebo, mientras que la coccidiosis, enfermedad más frecuente desde el punto de vista de los síntomas, no llega al 1% (gráfico 3). El CRO es la principal causa de muerte en todos los tipos de granjas, épocas del año, regiones, razas y pesos.

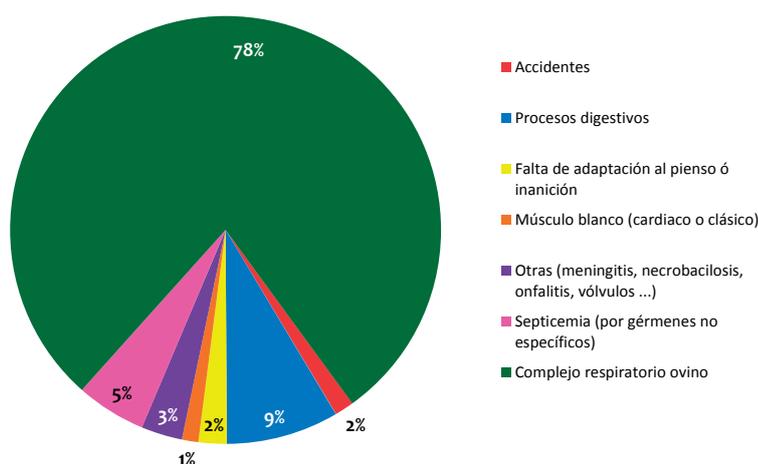


Gráfico 3. Estudio realizado sobre los datos de 5.394 necropsias sobre corderos de cebo realizadas desde el año 2000. La mayor parte de las muestras proceden de cebaderos (78,51%, 4.235 necropsias) pero también las hay de granjas con reproductoras (15,37%) y centros de tipificación (6,12%). Los datos se presentan agrupados por sistemas para facilitar la comprensión.

Dentro del CRO hay muchos tipos de presentaciones que se podrían agrupar en formas septicémicas, agudas y crónicas. La forma septicémica está caracterizada por gran cantidad de hemorragias y afección de las vías respiratorias altas en especial fosas nasales, epiglotis y linfonodos retrofaríngeos. Esta forma es más frecuente en corderos de tipo pastero y durante el otoño ($p < 0,05$). Por el contrario, las formas crónicas presentan fuerte reacción de los linfonodos preescapulares y mediatínicos, lesiones pulmonares consolidadas y poco daño vascular. Los animales crónicos son corderos con menor peso en el momento de la muerte, que han permanecido más tiempo en cebo y es mucho menos frecuente en corderos de tipo merino ($p < 0,05$). Entre ambos tipos de CRO están las formas agudas que representan la mayoría de los casos. Se caracterizan por lesiones pulmonares consolidadas a la vez que gran presencia de daño vascular con hemorragias y fibrina.

La realización de necropsias permite reconocer las formas de CRO y orientar la toma de muestras y el diagnóstico del agente implicado. Hasta un total de 44 especies bacterianas han sido aisladas de las muestras tomadas de animales muertos por CRO (gráfico 4). Cinco agentes suponen más del 80% del total de los aislamientos, estos son: *Mannheimia haemolytica* (MH), *Pasteurella multocida* (PM), *Bibersteinia trehalosi* (BT) y *Mycoplasma* spp. considerados productores de enfermedades respiratorias a nivel mundial y *Escherichia coli* (EC). Este último suele ser considerado contaminante en la mayoría de los casos pero puede producir neumonía fibrinosa. A su vez, MH y BT se dividen en distintos serotipos. En España, se llevó a cabo un estudio para determinar los serotipos presentes, encontrando ocho serotipos de MH, entre los que destacaron A2, A12 y A1, y los cuatro existentes de BT entre los que destacó T4 (Gonzalez and others 2013). Otro aspecto a tener en cuenta es que únicamente el 22,65% (255/1.126) de los cultivos fueron puros, es decir, con un solo agente implicado y creciendo de manera masiva. Los cultivos puros fueron más habituales en BT con el 26,42% (51/193) seguido de MH con un 17,19% y EC con un 14,29%. Por el contrario, PM sólo tuvo un 7,36% de cultivos puros y Mycoplasmas fue encontrado en pureza en el 1,64% (5/305) de los casos. La gran variedad de serotipos de MH y BT y la presencia simultánea de varios agentes puede condicionar el éxito de los tratamientos, ya que en muchas ocasiones al menos uno de los gérmenes puede resultar resistente a los antibióticos empleados y condiciona la elección de las vacunas.

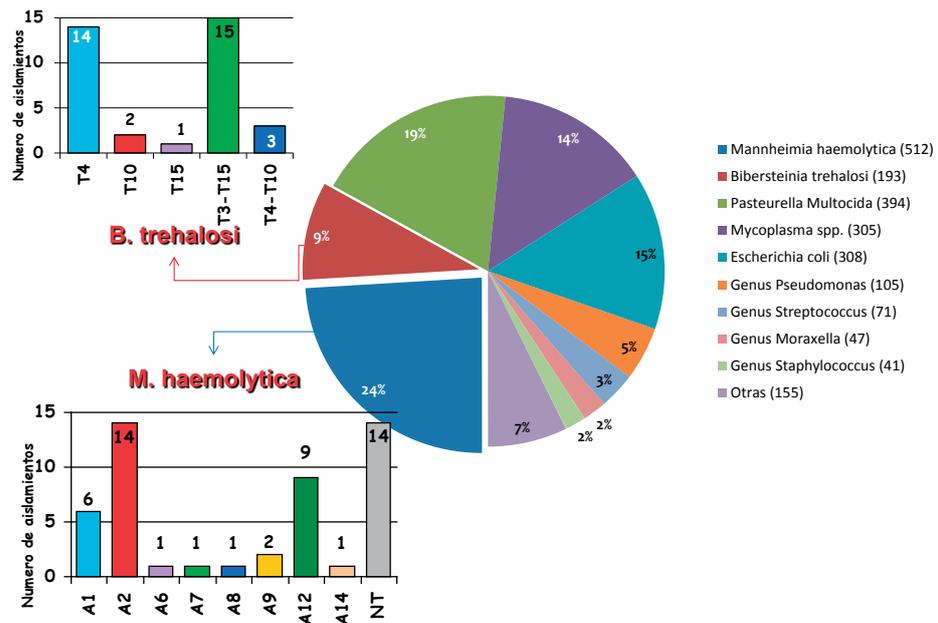


Gráfico 4. Estudio realizado con los datos de 5.394 necropsias sobre corderos de cebo realizadas desde el año 2000. Se realiza el estudio de 1.126 cultivos con un total de 173 casos con cultivo negativo (7,51%) y 2.131 aislamientos. Se han agrupado por género Pseudomonas, Moraxella, Streptococcus y Staphylococcus para facilitar la visualización.

Se observaron diferencias en los cultivos entre las formas de presentación. Así el cultivo más frecuente en las formas crónicas fue PM+MH con un 21,52% de los aislamientos, en formas septicémicas fueron MH y BT en pureza con un 22,13% y 20,49% de los aislamientos respectivamente y en formas agudas PM+MH+Mycoplasmas con un 17,25% de los cultivos. Estas diferencias se observaron también en los serotipos por ejemplo, el serotipo T4 se asoció a cuadros de CRO sin lesiones pulmonares consolidadas, es decir, formas septicémicas.

Las lesiones pulmonares asociadas a parásitos son raras en corderos españoles, menos del 2% de los pulmones examinados presentaron lesiones parasitarias entre las que destaca *Dictyocaulus* con el 1,33% (72/5.394) y en menor medida las neumonías verminosas 0,33% (18/5.394). Por el contrario, es frecuente la presencia de larvas de *Oestrus ovis* en las fosas nasales, 9,74% de los casos estudiados, siendo máxima durante los meses de julio, agosto y septiembre. Estas lesiones parasitarias son más frecuentes en corderos pasteros, grupo andaluz y merinos.

Los corderos pasteros tienen un mayor riesgo de muerte por procesos digestivos que los corderos finos (1,85 veces mayor, $p < 0,05$) y que los merinos (3,58 veces, $p < 0,05$). Esto es debido principalmente a parásitos digestivos entre los que destacan la presencia de trichuris, haemonchus, ostertagia, nematodirus y fasciola. Además, las muertes por procesos digestivos dentro de este grupo de corderos se produce antes que en el resto de corderos ($p = 0,003$).

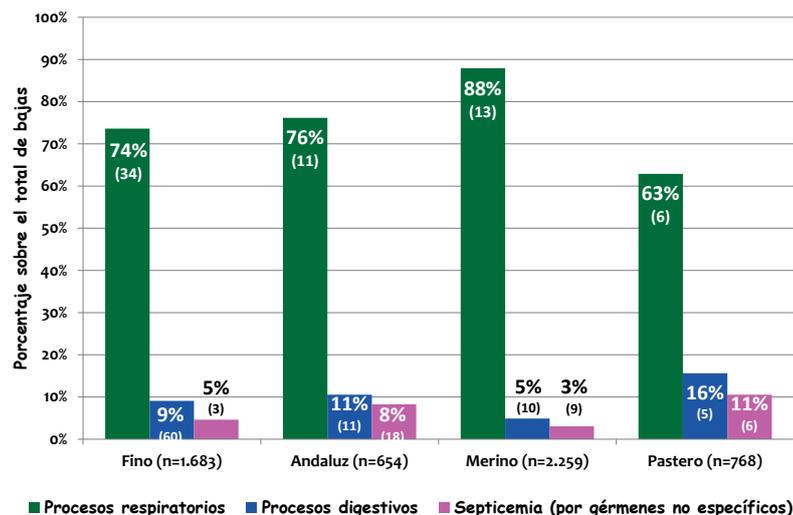


Gráfico 5. Causas de muertes por grupos de corderos: finos (razas entrefinas como Rasa Aragonesa, Manchega, Segureña, Lacaune,...), grupo andaluz (corderos de hembras principalmente cruzadas explotadas en Andalucía), grupo merino y pasteros (corderos con peso superior a los 24kg que han sido alimentados exclusivamente con pasto hasta la entrada a cebadero). Las causas de muertes se restringen a las tres categorías más frecuentes para cada grupo de corderos. Entre paréntesis los días transcurridos en el cebadero hasta su muerte.

Las necropsias además de, permitir orientar o alcanzar un diagnóstico de la causa de la muerte, aportan información sobre lesiones causadas por enfermedades distintas a la causa de muerte. La relacionada con enfermedades inmunodepresoras es especialmente importante. Lesiones compatibles con coccidiosis (enteritis granulomatosa y linfonodos mesentéricos tumefactos) se observaron en el 28,82% (1.443/5.007) de los corderos estudiados, si bien, sólo un 37,21% (537/1.443) de estos animales presentaba diarrea o zona perianal sucia en el momento de la necropsia. Esta diferencia entre síntomas y lesiones podría explicarse, entre otras cosas, por la localización de las lesiones. La enteritis granulomatosa fue observada más frecuentemente en intestino delgado (26,93%, 1.374/5.103) que en intestino grueso (5,60%, 285/5.088). En los casos con afección exclusiva del intestino delgado la diarrea estaba presente en el 33,33% (384/1.152), mientras que cuando afectaba al intestino grueso era del 51,85% (42/81) y cuando afectaba a ambos tramos del intestino alcanzaba el 55,88% (114/204). Así pues, la existencia de lesiones compatibles con coccidiosis en intestino grueso incrementa el riesgo de diarrea en 2,41 veces respecto a lesiones localizadas exclusivamente en el intestino delgado ($p < 0,05$). Como vemos la diarrea compatible con coccidios es un mal indicador del grado de importancia de la enfermedad durante el cebo. En primer lugar, muchos animales presentan lesiones pero no diarrea y en segundo, la aparición de la diarrea es posterior a la reducción de la inmunidad.

Lesiones de otras dos enfermedades que provocan inmunodepresión estuvieron presentes en las necropsias. Así, lesiones de ectima contagioso se apreciaron en el 11,99% (639/5.328) de las necropsias, afectando, especialmente, a la cavidad bucal pero también a esófago y rumen. En menor medida se observaron lesiones compatibles con de la infección por virus border como las definidas por Thabti (Thabti and others 2002) en el 5,76% (249/4.320) de los animales y lesiones más graves compatibles con la presencia de like-mucosas disease (Monies and others 2004) en un 1,53% de las necropsias (66/4.320). En resumen, el 40,44% (1.719/4.251) de los corderos presentaron lesiones compatibles con border disease virus, ectima y/o coccidiosis a la necropsia, poniendo de manifiesto la importancia de las enfermedades inmunodepresoras en la patología de los corderos de cebo.

EFFECTO DE LA PATOLOGÍA SOBRE LAS PRODUCCIONES Y LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL

La mortalidad de los corderos es una de las fuentes de pérdidas económicas más importante durante el cebo, pero no la única. Todas las patologías tienen efecto sobre el crecimiento, la conversión de pienso o la calidad del producto final. Aunque esto es bien conocido, en muchas ocasiones, no es suficientemente ponderado a la hora de realizar el análisis coste beneficio de las medidas preventivas adoptadas o futuras. Pondremos tres ejemplos de cómo la patología condiciona la rentabilidad de las producciones durante el cebo.

El descenso de crecimiento asociado al CRO es el más claro ejemplo de cómo la patología condiciona el potencial productivo de los corderos de cebo. Numerosos trabajos han descrito descensos de crecimiento correlacionados con la proporción de parénquima pulmonar afectado (Goodwin and others 2004) en animales de edad y pesos cercanos a los manejados en nuestro sistema productivo (Green and others 1995). En un estudio realizado con corderos de raza Rasa Aragonesa los descensos fueron de 36 gramos por día durante el cebo (González and others 2001). Estos retrasos en alcanzar el peso de sacrificio se traducen en más días de cebo, por lo que, la capacidad productiva de la instalación se reduce. En concreto el estudio anterior cifró en un 10% el incremento de tiempo de cebo para los corderos que presentaron lesiones pulmonares en matadero. Esto es especialmente grave en cebaderos donde la rotación de corderos es importante para reducir el coste diario por plaza.

Las enfermedades también influyen sobre la cantidad y la calidad del producto vendido. En concreto, la patología respiratoria provoca reducción de la cantidad vendida debido a decomisos de pulmón, costillar

e incluso canales completas. En el estudio definido al inicio del documento se observaron aspectos relacionados con los decomisos y se obtuvieron varias conclusiones interesantes. En primer lugar, se observó que los corderos que presentaron síntomas de CRO durante el cebo tuvieron un riesgo 3,11 veces mayor de que su pulmón fuese decomisado que aquellos que no tuvieron síntomas ($p < 0,05$). Aun así, el porcentaje de pulmones decomisados entre los corderos que no presentaron síntomas de CRO fue el 33,97% (284/836). Al analizar el papel de la coccidiosis clínica se observó que aquellos que presentaron síntomas durante menos de 15 días no suponía un incremento del riesgo de decomiso (36,61% *vs.* 35,57% para coccidiosis leves y sin coccidiosis respectivamente), mientras que aquellos que presentaron diarrea más tiempo incrementaron el riesgo de decomiso (57,69%) en 2,47 y 2,36 veces respecto a sanos y a duraciones más breves de los síntomas ($p < 0,05$). Es decir, las coccidiosis más intensas favorecieron la presentación de lesiones pulmonares y además, incrementaron la presentación de lesiones pulmonares extensas en 2,97 y 2,49 veces respecto a sanos y coccidiosis leves, respectivamente. De nuevo se observó el importante papel jugado por la coccidiosis como favorecedor de patologías respiratorias ($p < 0,05$).

Además, los procesos patológicos afectan a la calidad del producto final. En el estudio anterior se valoró la calidad de las canales por parte del consejo regulador de la igrp del Ternasco de Aragón, observándose un rechazo 2,16 veces mayor en aquellas canales en las que el pulmón fue de decomisado (12,12% *vs.* 22,99% para los animales sanos o con decomiso de pulmón respectivamente, $p < 0,05$). En cuanto a las causas de rechazo resultaron estadísticamente diferentes, así la principal causa de rechazo en sanos fue el exceso de peso (22,37%, 17/76) mientras que en aquellos con decomiso de pulmón fue la falta de peso/grasa (42,17%, 35/83). Esta falta de peso/grasa reduce la calidad del producto final, suponiendo rebajas en su valor así como una menor vida útil de la canal. Esto hace que su venta resulte más problemática y generalmente se realice a menor precio.

De forma general podríamos definir que la patología provoca pérdidas económicas importantes asociadas tanto a pérdidas directas como indirectas. Las bajas o los costes en tratamiento y prevención son el mejor ejemplo de incremento de coste directo. Las pérdidas indirectas son más difíciles de valorar y podría considerarse como tal: el incremento de la cantidad de inmovilizado y reducción de la capacidad productiva de la explotación asociado a periodos de cebo más largos, la menor cantidad vendida por los decomisos o peor calidad del producto final ligada a la consiguiente merma de valor económico.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a todos los veterinarios que han participado en la toma de datos que hoy suponen una importante fuente de información. En especial, me gustaría reseñar el importante trabajo de los compañeros de Gabinete Técnico Veterinario, SL, sobre todo a Luis y Mónica y a los profesores y amigos de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza: Delia Lacasta, Luis Miguel Ferrer, Luis Miguel Cebrián y Marcelo de las Heras. Y por supuesto a todos los ganaderos que han confiado en nuestros servicios y con los que hemos crecidos juntos en los conocimientos sobre el cebo de corderos.

BIBLIOGRAFÍA

- Cavini, S., Iraira, S., Siurana, A., Foskolos, A., Ferret, A. & Calsamiglia, S. (2015) Effect of sodium butyrate administered in the concentrate on rumen development and productive performance of lambs in intensive production system during the suckling and the fattening periods. *Small Ruminant Research* 123, 212-217
- González, J. M., de las Heras, M., Ferrer, J. M., Figueras, L., Garcia de Jalón, J. A. & Lacasta, D. (2001) Las neumonías catarrales crónicas influyen negativamente en los índices productivos del cordero tipo ternasco. In XXVI Jornadas Científicas de la SEOC. Ed S. E. D. O. Y. CAPRINOTECNIA. Sevilla, SEOC. pp 742-748
- Gonzalez, J. M., Lacasta, D., Ferrer, L. M., Figueras, L., Abadie, G. & Heras, M. D. L. (2013) Mannheimia haemolytica and Bibersteinia trehalosi serotypes isolated from lambs with ovine respiratory complex in Spain. *Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etaireias = Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 64, 177-182
- González, J. M., Lacasta, D., Ferrer, L. M., Figueras, L., Ramos, J. J., Heras, M. D. L. & Gabinete Técnico Veterinario Sl, Z. S. (2014) Natural border disease virus infection in feedlot lambs. *Veterinary Record* 174, 69
- Goodwin, K. A., Jackson, R., Brown, C., Davies, P. R., Morris, R. S. & Perkins, N. R. (2004) Pneumonic lesions in lambs in New Zealand: patterns of prevalence and effects on production. *New Zealand Veterinary Journal* 52, 175-179
- Green, L. E., Berriatua, E., Cripps, P. J. & Morgan, K. L. (1995) Lesions in finished early born lambs in southwest England and their relationship with age at slaughter. *Preventive Veterinary Medicine* 22, 115-126
- Huyghe, C., Vlieghe, A. D., Gils, B. V. & Peeters, A. (2014) Importance of the grassland area and grassland-based systems in Europe and their spatial distribution. In *Grasslands and herbivore production in Europe and effects of common policies*. Ed E. QUAE. Vesailles Cedex, France. pp 21-56
- Joy, M., Alvarez-Rodriguez, J., Sanz, A., Ripoll, G., Ferrer, J., Congost, S. & Revilla, R. (2009) Utilización de recursos forrajeros en el cebo de corderos. In 34 Congreso nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Ed S. E. D. O. Y. Caprinotecnia. Barbastro (Spain). pp 25-39
- MAGRAMA (2015) Encuestas de sacrificio de ganado. Access, 2015
- Monies, R. J., Paton, D. J. & Vilcek, S. (2004) Mucosal disease-like lesions in sheep infected with Border disease virus. *Veterinary Record* 155, 765-769

- Nandi, S., De, U. K. & Sumit, C. (2011) Current status of contagious ecthyma or orf disease in goat and sheep - a global perspective. *Small Ruminant Research* 96, 73-82
- Thabti, F., Fronzaroli, L., Dlissi, E., Guibert, J. M., Hammami, S., Pepin, M. & Russo, P. (2002) Experimental model of Border Disease Virus infection in lambs: comparative pathogenicity of pestiviruses isolated in France and Tunisia. *Veterinary Research* 33, 35-45
- Wright, S. E. & Coop, R. L. (2008) Cryptosporidiosis and Coccidiosis. In *Diseases of Sheep*, Blackwell Publishing Ltd. pp 179-185

THE BAIT LAMB PRODUCTION IN SPAIN. MOST RELEVANT HEALTH ISSUES

SUMMARY

The productive results in Spanish fattening lambs arise from the interaction of several factors such as management, husbandry, nutrition and health. This paper reviews the main aspects related to the presentation of diseases in fattening period and their effects on deaths and production results. For this, we use information that has been collected during the daily clinical practice. The symptoms dynamic for coccidiosis and ovine respiratory complex during this period is exposed and the association between them is established. CRO is the main cause of death in all situations for fattening period, although, there are different clinical presentations that exhibit differences about the etiology. This pathology, intimately related to immunosuppression situations, is favored by stress and diseases such as orf, acute infections by border disease virus and coccidiosis that are present in over 40% of necropsied lambs. Finally, examples of how the pathology causes a decrease of the production potential in areas such as growth rates, condemnations or quality of the final product are presented.

Key words: fattening lambs, ovine respiratory complex, coccidiosis, immunodeficient, border disease virus, stress.

PLAN ESTRATÉGICO Y DE ACCIÓN PARA REDUCIR EL RIESGO DE SELECCIÓN Y DISEMINACIÓN DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

MUÑOZ, C.

C/ Campezo nº1 EDF 8, Madrid 28022

cmunoz@aemps.es

RESUMEN

El problema de la resistencia a los antibióticos es una de las principales amenazas para la salud pública, causando gran impacto clínico, epidemiológico y microbiológico a nivel mundial. Son muchos los que están trabajando en la lucha frente a este problema; la OMS en su 68ª Asamblea Mundial de la Salud adoptó un plan de alcance mundial para la lucha frente a la resistencia a los antibióticos, y la UE ha hecho de la lucha para combatir la resistencia a los antibióticos una prioridad, con un Plan Director de Acción sobre Resistencias Antimicrobianas. En esta línea, en España, y coordinado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS)) ha desarrollado un Plan nacional estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antimicrobianos (PRAN) con un doble objetivo, reducir la contribución del uso de antibióticos en medicina humana y veterinaria a la resistencia bacteriana, y sus consecuencias sobre la salud, y preservar de manera sostenible el arsenal terapéutico existente. El plan tiene un planteamiento multisectorial, incluyendo diferentes sectores (medicina humana y animal, producción, investigación, educación y comunicación) ya que, solo si logramos poner en marcha acciones en todos los sectores simultáneamente, lograremos detener la expansión del fenómeno de las resistencias y mantendremos la eficacia del arsenal terapéutico actual.

Palabras clave: resistencia, antibióticos, estrategias, vigilancia, control.

Antes de abordar el tema que nos ocupa en esta ponencia, es necesario poner en contexto el proyecto del Plan Estratégico y de Acción para Reducir el Riesgo de Selección y Diseminación de Resistencias a Los Antibióticos, para poder entender su importancia y la necesidad de su desarrollo.

El problema de la resistencia a los antibióticos, sin lugar a dudas, por la magnitud que ha alcanzado, se ha convertido en una de las principales amenazas para la salud pública, causando gran impacto clínico, epidemiológico y microbiológico a nivel mundial.

Aunque son muchos los factores que favorecen la selección y diseminación de la resistencia a los antibióticos (RA), el uso inapropiado e indiscriminado de los mismos son dos de los factores principales que contribuyen a este fenómeno, junto al control deficiente de la infección bacteriana.

Como son muchos y diversos los factores que están implicados en este fenómeno, la respuesta no puede ser individual, sino que debe integrar a todas las partes implicadas en una acción coordinada, que sume los esfuerzos de todos.

Son muchos los que están trabajando en esta línea, pero vamos a destacar dos por ser de gran significado en esta lucha.

Por un lado la OMS en su 68.^a Asamblea Mundial de la Salud, que tuvo lugar en Ginebra del 18 al 26 de mayo de 2015, adoptó un plan de alcance mundial para la lucha frente a la resistencia a los antibióticos.

El plan establece cinco objetivos:

- Mejorar la sensibilización y la comprensión de la resistencia a los antimicrobianos
- Reforzar la vigilancia y la investigación
- Reducir la incidencia de las infecciones
- Optimizar el uso de los antimicrobianos
- Asegurar inversiones sostenibles para contrarrestar la resistencia a los antimicrobianos.

Igualmente, combatir la resistencia a los antibióticos es una prioridad de la UE, que ha identificado la necesidad de establecer una estrategia común europea. En esta línea, en noviembre del año 2011 el Parlamento Europeo publica una resolución no legislativa, por la que se establece un Plan Director de Acción sobre Resistencias Antimicrobianas, con una duración de cinco años, 7 áreas clave de actuación y 12 acciones concretas.



Figura 1. Plan Director de Acción sobre Resistencias Antimicrobianas.

Posteriormente a esta resolución, el 29 de mayo de 2012, el Consejo de la Unión Europea publica un documento de conclusiones sobre el impacto de las resistencias antimicrobianas, y cómo se debe abordar conjuntamente, desde la perspectiva de la salud humana y veterinaria. En el punto 29 de este documento se exhorta a los Estados Miembros para que desarrollen e implementen a nivel nacional, estrategias o planes de acción para contener el desarrollo de resistencias a los antimicrobianos

Para dar respuesta a este mandato, la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) inicia en el año 2012, una nueva línea de trabajo, con el objetivo de elaborar un Plan nacional estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antimicrobianos (PRAN) con un doble objetivo, reducir la contribución del uso de antibióticos en medicina humana y veterinaria a la resistencia bacteriana, y sus consecuencias sobre la salud, y preservar de manera sostenible el arsenal terapéutico existente.

En el año 2014 el Plan Nacional de Resistencia a los Antibióticos fue aprobado en el pleno del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, y en el pleno de la Conferencia Sectorial del Ministerio de Agricultura.

El Plan tiene una duración inicial de cinco años (2014 – 2018) siendo esencial la implicación de todas las partes para su realización; actualmente en el plan, están integrados representantes de seis ministerios (Sanidad, Agricultura, Economía, Interior, Defensa y Educación), todas las CCAA, representantes de 61 sociedades y asociaciones científicas, profesionales y productoras, laboratorios de referencia, plataformas profesionales, expertos externos, así como universidades y Organizaciones Colegiales. En total, son 190 expertos trabajando en conjunto con un solo objetivo:

reducir la contribución del uso inadecuado de antibióticos a la resistencia bacteriana desde la perspectiva de una sola salud.

Para alcanzar dicho objetivo, se proponen seis líneas estratégicas, comunes para la salud humana y veterinaria.



Figura 2. Líneas estratégicas del Plan Nacional de Antibióticos.

Vamos a revisar estrategia por estrategia, para tratar de entender sus objetivos y las principales acciones que ya se han iniciado en cada una de ellas. Pero antes vamos a explicar un poco como estamos trabajando. Cada una de las líneas estratégicas se ha subdividido en medidas, y estas medidas en acciones concretas. Por cada una de las medidas se ha formado un grupo de trabajo, integrado por representantes de la AEMPS, del Grupo Coordinador Técnico y de las CCAA, y por todos aquellos expertos que se hayan identificado como necesarios para el desarrollo de cada una de ellas.

En la primera estrategia incluida en el plan, vigilancia del consumo de antibióticos y las resistencias microbianas, están incluidas distintas acciones específicas de salud humana y veterinaria. Dentro de este segundo grupo, tenemos tres acciones claves: Mejorar los sistemas de vigilancia de las ventas de antibióticos, incluyendo datos a nivel de distribuidores; desarrollo e implantación de la receta electrónica y de sistemas informáticos de control de tratamientos ligados a la explotación y asegurar la explotación y análisis de los datos a nivel local, regional y nacional y el retorno de información.

La primera acción, Mejorar los sistemas de vigilancia de las ventas de antibióticos, incluyendo datos a nivel de distribuidores, se explica dentro

del proyecto europeo ESVAC (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption) que se inicio en el año 2009; este proyecto está coordinado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y cada estado Miembro debemos aportar de forma anual, los datos de ventas y consumo de antibióticos en nuestros respectivos territorios.

España está participando en este proyecto desde el principio, aportando anualmente los datos de ventas de antibióticos, proporcionados por los laboratorios farmacéuticos. Sin embargo, nos planteamos dos retos para este año: incorporar al proyecto los dos niveles siguientes en la cadena de distribución: mayoristas y minoristas, incluidas farmacias, y desarrollar un sistema *on-line* para la declaración de datos.

Ambos retos ya son realidad, puesto que la plataforma *on-line* ya está en funcionamiento¹, y se han incluido los niveles de mayoristas y minoristas en la declaración de datos.

La segunda fase del proyecto ESVAC implica que, junto a estos datos, deberemos aportar aquellos relativos al consumo de antibióticos a nivel de granja. Este proyecto se ha iniciado de forma piloto en este año, pero es un requerimiento que está incluido como obligatorio en la nueva legislación de medicamentos veterinarios, actualmente en discusión.

Cuando nos planteamos como darle respuesta a este reto, incluyendo todas las especies y con datos que nos pudieran permitir la trazabilidad del consumo, vimos claro que, la implantación de un sistema de receta electrónica a nivel nacional nos permitiría recoger estos datos, y cumplir este mandato, además de facilitarnos la realización de otras acciones incluidas en el PRAN.

Es por esto que se incluye, como segunda acción, el Desarrollo e implantación de la receta electrónica y de sistemas informáticos de control de tratamientos ligados a la explotación

Este grupo de trabajo se ha reunido con el objetivo de desarrollar las recomendaciones que deberían tenerse en cuenta a la hora de elaborar este proyecto y la estrategia de implementación del mismo:

- El sistema debe ser único y común a nivel nacional; para ello deberá desarrollarse una normativa específica por el organismo competente, donde se incluyan los términos del proyecto.
- Definición del formato de receta electrónica, que será aquél que se adopte en aplicación de la normativa vigente.

¹ EMA http://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/industria/2015/NI-MVET_06-2015-proyecto-ESVAC.htm

- Se definen los campos que deberían ser obligatorios para cuatro tipos de recetas diferentes:

para animales productores de alimentos

para animales de compañía/ otros (animalarios)

para piensos medicamentosos.

para prescripción excepcional

- Se proponen cinco niveles de acceso diferentes:

Veterinario prescriptor

Distribuidor-dispensador

Ganadero

Operador de pienso autorizado para la elaboración de piensos medicamentosos.

Autoridades competentes.

El sistema necesita tener un vademécum asociado, que proporcione al veterinario clínico el conocimiento de las características de cada medicamento. Como la Agencia Española del Medicamento es el organismo oficial que se encarga del registro de los medicamentos, se propone que la AEMPS desarrolle un catálogo o nomenclátor y que este sea el sistema asociado a la receta electrónica.

Desde entonces el proyecto ha progresado en todos sus líneas, trabajando de forma conjunta todos los actores necesarios para dar continuidad y coherencia al proyecto.

Desde la AEMPS se ha desarrollado la primera fase del Nomenclátor o catálogo de medicamentos veterinarios, que se publicara a finales del mes de junio; igualmente, se ha elaborado el documento, en formato preguntas y respuestas, relacionado con la prescripción excepcional, para facilitar y asegurar la homogeneidad en la interpretación de su uso².

Pero como se ha mencionado anteriormente, la receta electrónica nos va a permitir también el desarrollo de otras acciones incluidas en el PRAN, como son asegurar la explotación y análisis de los datos a nivel local, regional y nacional, y el retorno de la información, controlar de forma específica el uso de antibióticos críticos, conocer el uso real en el campo, e identificar problemas frente a prácticas no correctas. Esta información nos permitirá tomar medidas de manejo reales y adecuadas,

² AEMPS <http://www.aemps.gob.es/medicamentosVeterinarios/saludVeterinaria/home.htm>

dentro de programas a escala nacional, con respuestas multisectoriales, para poder afrontar con probabilidades de éxito el control del riesgo derivado de la aparición de resistencias.

En la segunda estrategia, controlar las resistencias bacterianas, incluimos las siguientes acciones en veterinaria: controlar la difusión de resistencias, diseñar y difundir herramientas para la promoción de las buenas prácticas de uso de antibióticos, elaborar directrices para la prescripción excepcional de antibióticos y limitar el uso profiláctico de los antibióticos a casos con necesidades clínicas definidas.

Para el control de la difusión de resistencias se propone implementar en España el proyecto europeo *Target Pathogens Monitoring Programme in food-producing animals in the EU*. En este proyecto se han elaborado distintos documentos que nos aseguran homogeneidad en la interpretación de los datos obtenidos. En Europa se han incluido tres especies, porcino, bovino y aves para iniciar el proyecto; el grupo acordó que en España además de estas se incluirían ovino, caprino y animales de compañía.

Se trata de identificar el grupo formado por especie/patógeno/medicamento que debe ser controlado preferentemente, para tener un panorama de resistencias más completo no solo de bacterias zoonóticas e indicadoras, que son muy importantes desde un punto de vista de salud pública, sino también conocer las resistencias de patógenos clínicos, muy importantes para un mejor control de la salud animal.

En esta línea, y dentro de esta acción vamos a desarrollar un mapa epidemiológico por regiones ganaderas, que nos permita afrontar los problemas reales de una forma específica.

Por ejemplo en la siguiente medida, limitar el uso profiláctico de antibióticos a casos con necesidades clínicas definidas en salud animal, estos datos nos van a ayudar a identificar aquellos casos clínicos donde realmente se necesita un uso profiláctico de antibióticos, y diferenciarlas de las malas prácticas de uso, que se hacen a veces solo basadas en conceptos erróneos.

En la acción cuyo objetivo es diseñar y difundir herramientas para la promoción de las buenas prácticas de uso de antibióticos y elaborar directrices para la prescripción excepcional de antibióticos, intentamos hacer, no una guía más de uso, sino un referente para que el clínico tenga una herramienta de trabajo, donde consultar toda la información que necesite para realizar una prescripción adecuada (situación epidemiológica de su zona, tratamiento, recomendaciones para la forma de administración, etc) y como no, tratar de proporcionar una

mayor seguridad de la que existe actualmente a la hora de realizar una prescripción excepcional.

En la tercera estrategia, impulsar y fomentar medidas alternativas de prevención y tratamiento, están incluidas tres acciones específicas que son fomentar la mejora de las medidas de higiene, manejo y bienestar animal, promover el desarrollo y uso de métodos de diagnóstico rápido y fomentar la actualización de las autorizaciones de comercialización de los productos

En la primera se han identificado aquellas guías que es necesario crear o modificar, completándolas con información adecuada para que el ganadero realice una producción adecuada, que cree un ambiente donde las posibilidades de infección disminuyan, y por tanto la necesidad de usar antibióticos.

La promoción de métodos de diagnóstico rápido, y el camino para su implementación, sin que esto suponga una nueva carga económica para el productor, ayudaría tremendamente a realizar un tratamiento adecuado en campo.

Por lo que se refiere a la última acción, tratamos de identificar aquellos productos que pueden estar obsoletos, porque están en el mercado desde hace muchos años, y tratar de actualizarlos para preservar su eficacia.

Las otras tres estrategias, definir las prioridades en materia de investigación, formación e Información a los profesionales sanitarios y comunicación y sensibilización de la población en su conjunto y de subgrupos de población son acciones transversales, todas ellas comunes a humana y veterinaria y que se están desarrollando en paralelo.

En la estrategia de investigación tratamos de desarrollar y promover una estrategia común en materia de investigación, con el objetivo de conocer mejor los mecanismos de desarrollo de la resistencia y de transmisión de bacterias resistentes. Por otro lado, el desarrollo de nuevos antibióticos para hacer frente a la amenaza de la resistencia a antibióticos, es complejo y quizá, para su impulso, se requiera en el futuro de iniciativas específicas. Desde hace varios años, las compañías farmacéuticas invierten poco en la búsqueda de nuevos antibióticos. Tratamos de identificar iniciativas que faciliten la investigación en este sentido.

Un apartado muy importante dentro de este plan de investigación es el desarrollo de la investigación epidemiológica y socioeconómica, para tratar de mejorar el conocimiento sobre los aspectos determinantes que conducen a un alto consumo de antibióticos en general, y en granjas en particular. La práctica expandida de suministrar antibióticos de manera

rutinaria a los animales destinados a consumo humano bajo régimen intensivo, está contribuyendo al desarrollo de resistencias. El uso de antibióticos en ganadería intensiva se hace desde los años cincuenta. En algunos países, el consumo de antibióticos en salud animal excede al de salud humana. Los antibióticos se usan, en las explotaciones, principalmente para tratar enfermedades respiratorias e infecciones entéricas además de para tratar la enfermedad de forma individual. Pero ¿es siempre necesario? ¿Que hace que el uso sea tan elevado en algunas de las explotaciones y en otras no? ¿Es enfermedad o mal uso? Todas estas preguntas necesitan ser contestadas antes de determinar qué medidas son necesarias poner en marcha para tratar de detener este fenómeno.

En cuanto a la estrategia de formación, es vital para lograr un progreso adecuado de los objetivos incluidos en el plan. Los profesionales sanitarios son los primeros actores de la puesta en marcha de la estrategia de uso prudente de antibióticos, por lo que a través de la formación e información conseguiremos su adhesión a ella.

La formación de los profesionales sanitarios debe abarcar todas las etapas de su vida profesional, y dicha formación debe incluir todos los aspectos del uso prudente de los antibióticos, incluyendo el uso indebido y la aparición de resistencias. El desarrollo de herramientas de autoevaluación completa esta línea estratégica.

Y por último la comunicación, información y sensibilización, como pieza fundamental de cualquier estrategia que aborde de una forma global el problema de la resistencia a antibióticos. Garantizar la información y la formación, para conseguir la sensibilización de la población en general y subgrupos de población específicos en el uso racional de antibióticos, es una herramienta que nos permitirá modificar entre la población las conductas englobadas bajo el concepto de uso inadecuado de antibióticos, el uso no justificado, y facilitar la adherencia de la población diana en esta lucha.

Por tanto, como conclusión, podemos decir que el desarrollo de resistencia a los antibióticos es uno de los más graves problemas a los que nos tenemos que enfrentar actualmente. Las causas son múltiples y por tanto medidas aisladas y no coordinadas están abocadas al fracaso. Cualquier plan o estrategia de lucha frente a la resistencia a los antibióticos debe incluir a todos los implicados, movilizándolos con el mismo objetivo, evitar que la denominada *era postantibiótica* llegue, con las graves consecuencias que llevaría asociadas. Todos nos tenemos que concienciar de que esta lucha depende de cada uno de nosotros y ya no tenemos excusas para no actuar.

NATIONAL PLAN FOR COMBATING ANTIBIOTICS RESISTANCE

SUMMARY

Antibiotics resistance is occurring everywhere in the world, compromising our ability to treat infectious diseases, and with a very high epidemiological, microbiological and clinical impact. Nowadays, a wide range of initiatives and activities, aimed specifically at addressing the challenge of antimicrobial resistance, have been launched by governments and private entities around the world. World Health Organisation (WHO) has adopted a global action plan on antimicrobial resistance; in the same line EU has adopted an action plan against the rising threats from antimicrobial resistance, aimed to tackle antimicrobial resistance. The plan contains 12 actions and identifies 7 areas where measures are most necessary.

Spain has performed a National Plan to Combat Antibiotic Resistance which includes six strategies with the objective to combat the resistance and to ensure, for as long as possible, continuity of successful treatment of infectious diseases with effective and safe medicines , used in a responsible way, and accessible to all who need them.

The Plan has a holistic, multi-sectorial approach, involving many different sectors (human medicine, veterinary medicine, research, animal husbandry, education and communication) because it is only by taking action in all of these areas simultaneously that further spread of resistance will be limited and antibiotics kept effective.

Key Words: Resistance, Antibiotics, Strategy, Surveillance, Control.

TRENZADO, G.

Cooperativas Agroalimentarias.

Una reflexión sobre la PAC y su futuro requiere un pequeño repaso a la historia reciente y su evolución, así como el calado de las decisiones y el camino trazado por las instituciones comunitarias.

La PAC ha pasado de ser una política que gestiona un sector económico como el agrícola y ganadero, a otra de corte medioambiental. Los instrumentos de gestión de mercados prácticamente han dejado de existir, y los pagos directos, también en España, van eliminando poco a poco las referencias históricas que mantenían cierta vinculación con la actividad productiva. Vamos hacia una política agraria cuyos pagos directos estarán basados en base a cuestiones medioambientales y el mantenimiento de la superficie.

Para un sector como el ovino y, muy especialmente en España, donde muchas de las explotaciones no tienen base territorial propia, estas reformas han supuesto un gran reto. En primer lugar, el desacoplamiento de los pagos ha llevado a muchas explotaciones a tomar la decisión de abandonar la producción. Por otro lado, el desmantelamiento de las políticas de mercado suponen que los precios de las principales materias primas, como los cereales y piensos, sean volátiles y su tendencia a largo plazo sea alcista. Por último, el ovino de carne es un sector que debe reinventarse para ser un producto atractivo en el mercado nacional, donde lleva años perdiendo cuota de mercado, a la vez que sigue explorando la necesaria vía de la internacionalización para conseguir nuevos consumidores.

Hablar del futuro del sector en el marco de la PAC no sería muy apropiado, porque la tendencia no es el diseño de políticas sectoriales. Lo adecuado sería saber cómo el sector del ovino puede utilizar ciertos instrumentos de las políticas comunitarias y le sirva de palanca para

afrontar los retos productivos y de mercado que tiene por delante. Para ello señalaré los principales elementos e ideas que se barajarán en los próximos años y para comprender los debates en la UE:

El Presupuesto UE. Es una constante en el debate comunitario. En 2017 habrá una negociación abierta sobre la estructura del presupuesto de la UE. La presión de los países contribuyentes netos al presupuesto comunitario y la crisis económica presionarán una vez más al presupuesto de la PAC, la segunda partida más importante en gastos.

La política medioambiental. Cualquier política agraria en el futuro tendrá un componente medioambiental muy importante. El mantenimiento del presupuesto agrario sin mayores recortes se debió al diseño del Greening, sea o no un instrumento adecuado. El futuro del presupuesto y la presión social sobre esta política seguirá esta línea, incluyendo en ella la sanidad animal, seguridad alimentaria y las cuestiones de bienestar animal.

Investigación y desarrollo (I+D). Es la gran apuesta de las políticas comunitarias en los últimos tiempos para mantener la competitividad y calidad de los productos agroalimentarios, al tiempo que se buscan respuestas a los problemas productivos y de comercialización. Es una apuesta a largo plazo del sector público, pero sobre todo del sector, que requiere una gran inversión y una estrategia que vaya más allá de una campaña de comercialización.

Política comercial y competitividad. La globalización es un hecho, la clave es conocer si van a existir mecanismos reales de arbitraje en un marco multilateral o en base a acuerdos bilaterales, mucho más complejo y menos transparente. Esto quiere decir que ante un mercado global es más necesaria que nunca la colaboración entre los productores y comprender que la rentabilidad de las explotaciones vendrá por avanzar en la cadena de valor y captar mayor añadido de esta. La actividad productiva por si misma será difícil de mantener si no se cuentan con grandes estructuras, que en la UE no parecen posibles.

Elementos novedosos, competencia y seguros agrarios. El desmantelamiento de los instrumentos de gestión de mercados ha llevado a que el sector se organice, pero no siempre respetando las normas de competencia, adaptarse a la política de competencia o que esta se adapte al sector siendo más sensible al sector primario son cuestiones que ahora mismo están en el debate. Por otro lado, se abre un amplio debate sobre políticas de corresponsabilidad público privada para asegurar cierto nivel de rentas al productor a través de los sistemas de seguros agrarios.

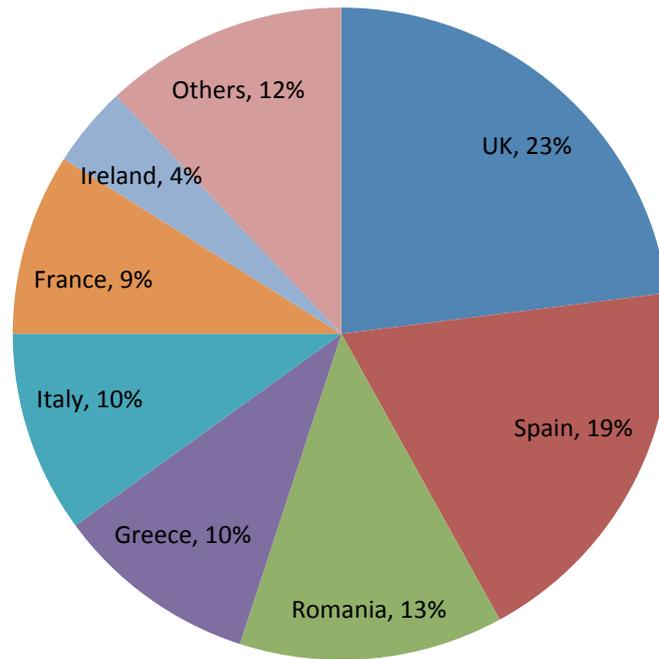
MORRIS, S.

Export Manager. EBLEX (Reino Unido).

Sheep have been domesticated by humans for at least 10,000 years and may well have been among the first species to be so. In Roman times the two great centres of sheep production were Britain and Spain and indeed, 2000 years later these remain the most important centres of sheep production. While initially, the focus of production was for meat, milk and skins, some 8,000 years ago farmers started to select for wool. In Europe, with the decline of the wool industry, and relatively recently there has been a greater focus on meat production. It should be said that milk and cheese production have remained well established with cheeses like Roquefort, Manchego, Feta, Pecorino and Bryndza all part of the popular culinary lexicon, not to forget that even in England cheeses such as Wensleydale also form part of that great tradition with some thanks to Wallace and Gromit.

Sheep meat forms a key part of the culinary tradition in many countries throughout Europe and there is no doubt that it is a meat that can divide opinion as it can never be accused of being middle of the road and non-descript. It is a meat with a distinct flavour and great qualities; a favourite amongst top chefs.

Sheep farming is a vital part of the rural economy in many EU Member States with the UK being the leading producer (chart 1).



Source GEB Institut de L'Elevage based on Eurostat data.

Chart 1. Distribution of EU 28 sheep flock (2013).

As sheep can be grazed on land that is unsuitable for other forms of agriculture, an important characteristic of this production is that it takes place in less favoured areas of the community. As such it plays key role in the economic activity of these areas as well as contributing positively to the environmental balance and diversity (chart 2).

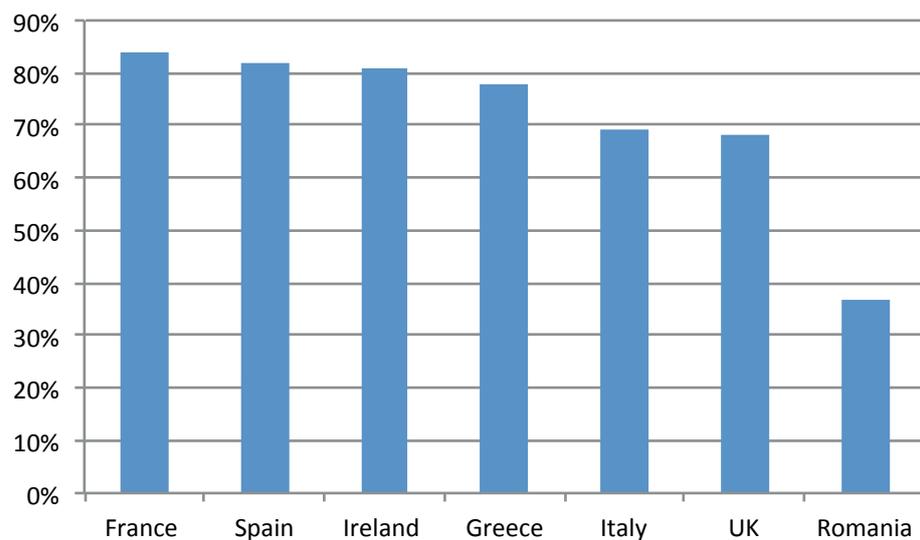


Chart 2.

It is therefore a concern that lamb consumption is under pressure and at the same time, low profitability is seeing a worrying decline in

production especially in recent years. Production fell from 1.1 million tons cwe in 2000 to 822,000 tonnes in 2012 and consumption fell from 1,3 million tonnes cwe to 967,000 tonnes over the same period.

The extensive nature of lamb production and the high costs associated with it, which have increased significantly in recent years have affected profitability, especially for a product which is already relatively expensive and where further increases in the selling price are bound to further weaken demand. Despite this, there is ample evidence that consumers are prepared to pay a premium for this product but it is then essential that the product is of the best quality and meets expectations.

In specific terms lamb faces a number of challenges, most of them to do with perception rather than reality, but they remain potent obstacles all the same. (Although sheep meat can be divided into several categories, those most familiar to consumers are lamb and mutton and I will limit my comments to lamb, broadly speaking, the meat from animals under 12 months of age.)

Research shows that lamb is less popular among younger consumers, with the majority of lamb consumers being over 45 and a significant proportion in some markets such as France, are over 50.

Source: Kantar Worldpanel	UK				Ireland			
	FRESH RED MEAT		FRESH LAMB		FRESH RED MEAT		FRESH LAMB	
Volumes (000 Kg)	52 w/e 30 Mar 14	share 2014	52 w/e 30 Mar 14	share 2014	52 w/e 30 Mar 14	share 2014	52 w/e 30 Mar 14	share 2014
Total Age	499 276	100%	67 951	100%	77 693	100%	9 417	100%
Under 44	150 697	30%	16 313	24%	22 677	29%	1 854	20%
Over 45	348 578	70%	51 637	76%	55 016	71%	7 563	80%

Source: Kantar Worldpanel	France			
	FRESH RED MEAT		FRESH LAMB	
Volumes (000 Kg)	52 w/e 23MAR14	share 2014	52 w/e 23MAR14	share 2014
Total Age	843 686	100%	56 455	100%
Under 49	347 089	41%	14 402	26%
Over 50	496 597	59%	42 054	74%

One of the main reasons for this is that younger consumers are often unfamiliar with how to prepare lamb and perceive it as being inconvenient. Younger households are often described as being time-poor in that both partners work often have the additional of children in school etc. Lamb has also not benefitted from the same level innovation as beef, pork or chicken. The product is presented in a very limited number of ways and even then frequently badly butchered. Lamb is often sold in large cuts for roasting which immediately limits its use

large families and special occasions rather than being more adapted to one and two person households and being in a format which is quick and easy to cook.

The lack of knowledge on how to prepare lamb is even more acute in those markets where it is not frequently consumed as is the case in Scandinavia and some other northern European countries.

What has the industry done to address these issues and what more can be done?

Many of the issues identified are not new and the concept of 'Quick Lamb' was pioneered by the Meat and Livestock Commission in the UK well over a decade ago, based on well trimmed, ready to cook cuts, better adapted to modern family living. But this problem affects the wider EU lamb market and the next EU market to seek a solution to sharply falling demand was France. With both consumption production falling at between 2 and 4% per annum for almost a decade, the entire future of the French sheep sector was under threat. And the repercussions of a collapse would extend further than that. Both the UK and Ireland are heavily reliant on sheep meat exports and for both countries, France is their major export destination. French domestic production accounts for less than 50% of consumption and, in fact, half of all UK sheep meat exports, go to France. Any weakness on this market directly affects market stability in the domestic market. As a consequence, it was recognised that the major players on that market shared a common interest in maintain demand and in 2007, the French, Irish and UK sectors agreed to work jointly to promote lamb generically in France. The campaign was called "Agneau Presto".

Agneau Presto picks up many of the concepts of 'Quick Lamb' but goes much further. There is a comprehensive range of activities in the supply and 'influence' chain. This covers PR and press, wide use of the web as a communications tool including engaging bloggers and presence at large public events such as the annual SIA agriculture show in Paris which brings visibility to the general public. In addition point of sale material and in-store promotional activity used to generate interest and attract consumers.

A key additional feature of this programme has been to engage the supply chain and in particular to provide training tools to professionals including cutting plants, independent and in-store retail chain butchers in order to develop a the cutting methods needed to provide cuts and portion sizes that are easy to prepare and cook. This has included the development and distribution of a cutting and specification guide and practical training sessions.

The key features of the Agneau Presto products are that they are in portions for at most 4 people (usually less). Cuts can be grilled in less than 10 minutes or roasted in less than 30 minutes. A common criticism of lamb from consumers is that there is a lot of fat and bone left at the end of the meal so cuts are trimmed and usually deboned to minimise and ideally eliminate 'plate waste'.

A major challenge with any enterprise of this sort is to get engagement from the major retailers and, while this has not been easy, the level of uptake is encouraging. The penetration rate amongst younger consumers (those under 35) has been reversed and in 2012 it increased by 3.4%. The trend has been maintained with a further increase in penetration amongst this group of 2.8% in 2013. While the availability of Agneau Presto type products has been inconsistent at times, there has been a significant improvement over the last two years. A survey conducted for Interbev shows that in 2012, 80% of stores in the French regions had 3 Agneau Presto type products on the shelves and this number increased to 6 in 2013. In Paris region the same figure increased from 3 to 5 over the same period.

Of course the challenges facing the French market are similar elsewhere so the current partners in Agneau Presto are now looking to develop a wider EU co-funded programme to cover six Member States; Belgium, Denmark, France, Germany, Ireland and the UK. These countries account for over half of all EU lamb consumption. The aim is to tackle the long term decline in the established markets (France, Ireland, UK) and improve the appreciation and consumption of lamb in some less established markets where consumption is under 1 kg per capita and where there is good potential for growth.

The programme will initially aim to improve the image of European lamb with consumers. It will stress the importance of European lamb production both in terms of its contribution to the countryside and its economic importance. It will also aim to establish the role of lamb as an everyday meat, showing that it is quick and easy to prepare and adapted to modern lifestyles. The strategy will be to attract younger consumers and especially for this reason, the principal tool we will use for communication will be the internet. The young, in particular, are the major users of social media and Eurostat surveys with over 50% of all internet users using it. Internet access overall in the EU is already very high; over 75% in 2012 compared with 50% in 2006 and it is estimated that by 2015 only 11% of EU individuals will have never used the internet.

A key feature will be a central, multilingual website and a common set of values and objectives as well as a common 'look' to the programme. The

programme will also use more traditional approaches including point of sale material, print and working with the supply chain to improve product presentation.

The global dynamics of the sheep meat industry are, it must be said, positive. Growing demand especially in China has diverted some of the volume that traditionally came from New Zealand and, to a lesser degree, Australia. But this is of small comfort if lamb consumption within the EU declines and, as is still the case, the EU has limited access to many of these new markets. This means that we will continue to rely on having strong markets closer to home at least in the medium term. For this reason it is essential that we tackle the underlying weaknesses in demand for lamb and persuade EU consumers to consume more lamb, differently.

BLAY, M.

Agr Food Marketing. Valencia

Hablar de la primera campaña de la interprofesional Interovic para promocionar la carne de cordero y lechal, es hablar de partida de cuatro hechos:

1. **La gran bajada de consumo:** en siete años se pierde alrededor de un 50% de mercado.
2. **La unión:** sin la unión esta campaña no existiría. Sin la unión del sector facilitada por la figura de la interprofesional, se hubiera complicado mucho la recaudación económica necesaria y la toma de decisiones.
3. **El apoyo de las administraciones públicas:** tanto a nivel económico como legislativo, que a su vez ha facilitado la unión del sector.
4. **El trabajo riguroso:** esta campaña se ha planteado a medio-largo plazo y desde la óptica de la inteligencia competitiva y de marketing, teniendo como base de conocimiento al consumidor.

Es un grave error pensar que cuando un sector tiene problemas de ventas o márgenes, se soluciona todo con publicidad. De entrada lo que más comunica en el sector alimentario es el producto, su calidad, cómo se presenta, su precio, cómo se consume, dónde se consume, cuándo, etc.

Por ello, lo primero que hizo la Interprofesional fue un estudio de mercado para fotografiar la situación de partida, en el que se analizaba la percepción del consumidor y de toda la cadena de valor para, identificar los parámetros más relevantes a la hora de proponer nuevos ejes de acción sobre los que trabajar los pilares del mix de marketing incluido el de la comunicación.

En este estudio se vieron varias razones que producían o provocaban la bajada del precio:

- Estamos ante un producto relativamente caro en medio de una crisis económica.
- Desde el punto de vista del marketing estratégico se posiciona como un producto de festividades y celebraciones y entre un segmento de mercado senior.
- Desde el punto de vista del marketing mix, nos encontramos con un precio alto; con un producto anticuado, pues los cortes y forma de cocinarlo son los de toda la vida y no se corresponden con los que demanda el consumidor moderno; con falta de presencia de producto en la distribución y a nivel de comunicación con una inexistencia total.

Con todo esto, **Agr Food Marketing** inicia la fase de reflexión estratégica. Lo primero será definir un nuevo posicionamiento diferencial, con el fin de hacer más competitiva a la carne de cordero y lechal y que intentemos sea una realidad en la mente de un nuevo segmento de consumidor más amplio y joven.

Para elegir este nuevo posicionamiento, que marcará el camino durante años a toda manifestación publicitaria y al *mix* de marketing, contábamos con la información del consumidor, de la competencia y con nuestras propias fuentes de la carne de cordero y lechal recopilada por toda España.

Además visitamos a nuestros vecinos franceses e ingleses y vimos cómo habían solucionado ellos el mismo problema.

De entrada vimos que un nuevo posicionamiento más competitivo, tenía que nacer de un nuevo producto, más competitivo, por ello proponíamos al sector que antes de embarcarse a hacer publicidad, tenía que modernizar el “producto”, desarrollando nuevos cortes más fáciles de cocinar, más sanos y más económicos.

De este modo, en 2014 se inicia un proceso de innovación de la mano de carniceros y cocineros dando como resultado una propuesta adaptada a las necesidades globales del gremio de carniceros español, con 7 nuevos cortes y 3 elaborados de carne de cordero y lechal. Para formar a carniceros y cocineros en estos nuevos cortes y convertirlos en embajadores y prescriptores del nuevo producto, que tenía que llegar a conocimiento del consumidor, se propuso llevar a cabo un tour en las principales capitales de provincia españolas y visitar 15.500 carnicerías de todo el ámbito nacional.

Nuestra siguiente reflexión fue que el nuevo posicionamiento debía además servir, tanto para los cortes tradicionales como para los nuevos. Debíamos encontrar algo que fuera común a todos los cortes, y no fue difícil encontrarlo. La diferenciación, sobre la que hemos iniciado el proceso de posicionamiento se basa en la forma natural en la que se cría y alimenta un cordero, frente a la del cerdo o el pollo, por ejemplo. Una cría y alimentación que le han permitido mantener en el tiempo un sabor único, auténtico y diferencial, un sabor de verdad.

La forma de expresar este posicionamiento en las piezas publicitarias –spot, carteles, etc.- ha sido mediante imágenes del campo, el pastor, su perro, el rebaño, etc. y mediante la frase “Carne de cordero y lechal, vuelve a disfrutar de la carne”.

Con los nuevos cortes, se puede disfrutar del cordero en cualquier comida, no hay que esperar al fin de semana o a alguna festividad. Unos momentos de disfrute suman a los otros.

Con estos nuevos cortes, más fáciles de cocinar más económicos y saludables, más la comunicación del nuevo posicionamiento en los medios masivos, deberíamos poder contar con que el producto estará más presente en el punto de venta, y a partir de aquí, es cuestión de constancia y paciencia, y se empezarán a ver los resultados.

Nosotros nos hemos puesto unos retos a medio plazo, una evolución positiva en los puntos clave, que son:

	Despiezado	Forma de cocinarlo	Momento	Consumidores
Punto de partida	99% clásico: peletilla, pierna y chuletas	99% clásica: asado, plancha y guisado	95% fiestas y fines de semana	90% mayores (+55)
			5% entre semana	10% jóvenes
AÑO 1 (2015)	80% clásico	70% clásico	90% fiestas y fines de semana	80% mayores (+55)
	20% nuevos cortes	30% moderna: plancha	10% entre semana	20% jóvenes
AÑO 2 (2016)	70% clásico	60% clásico	80% fiestas y fines de semana	70% mayores (+55)
	30% nuevos cortes	40% moderna: plancha	20% entre semana	30% jóvenes
AÑO 3 (2017)	60% clásico	50% clásico	70% fiestas y fines de semana	60% mayores (+55)
	40% nuevos cortes	50% moderna: plancha	30% entre semana	40% jóvenes

Por último, una reflexión: ¡¡¡ qué importante es que los dirigentes de un sector y los máximos responsables de la administración pública realicen o tengan acceso a la información, que facilita un trabajo de inteligencia de mercado permanente que detecte los cambios del entorno competitivo y las oportunidades y amenazas que estos cambios provocan!!!

Si hace 10 años se hubiera detectado el cambio en la forma de consumir, se hubiera hecho entonces la innovación en los cortes a modo de presentar a la venta la carne de cordero y con toda seguridad su descenso de consumo no hubiera sido del 50% durante la crisis.

ALEJANDRO, M.

DeLaval International A.B.

Anabel Segura 7, 1º, 28018 Alcobendas – Madrid.

manuel.alejandro@delaval.com

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado e incorporado distintos automatismos en las granjas y salas de ordeño. Estas nuevas herramientas se han implantado, en primer lugar, en los sistemas de ordeño de ganado vacuno. En el caso del ganado caprino y ovino, el uso de automatismos es menos común, sin embargo recientemente, existe una demanda por modernizar las explotaciones lecheras y por lo tanto el número de granjas que incorporan algún tipo de automatismo se ha incrementado. Uno de los principales factores que ha popularizado el uso de estos dispositivos es la mayor disponibilidad de equipos diseñados exclusivamente para pequeños rumiantes.

El uso de automatismos en la sala de ordeño está encaminado por un lado a reducir el tiempo y los costes de mano de obra, y por otro lado a mejorar el estado sanitario de los animales y obtener información válida para la toma de decisiones.

Dentro de los automatismos más utilizados en ganado caprino y ovino tenemos los siguientes:

- Corte automático de vacío
- Medidores de leche
- Identificación electrónica
- Sistemas de Gestión
- Puertas selectoras

1. CORTE AUTOMÁTICO DE VACÍO

Una de las mayores preocupaciones, desde que se comenzó a utilizar el ordeño mecánico, en la ganadería lechera ha sido el efecto nocivo del sobreordeño (Natzke *et al.*, 1982) debido a que afecta la condición del pezón y la salud de la ubre (Rasmussen 2004).

El sobreordeño puede ser definido como el momento a partir del cual el flujo de leche desde la cisterna de la ubre a la cisterna del pezón es menor que el flujo de leche a través del canal del pezón (Rasmussen 2004). Durante el sobreordeño el nivel de vacío medio en el pezón es mayor debido a que no hay flujo de leche que ayude a disipar el vacío, lo cual si se realiza de forma repetida puede ocasionar daños capilares (Hillerton *et al.*, 2002). Una vez que se produce el sobreordeño, en un tiempo muy corto (10 pulsaciones), el vacío dentro de la cisterna del pezón sigue el mismo patrón del vacío de la curva de pulsación, es decir, vacío muy cercano a cero durante la fase “D” y vacío cercano al vacío de ordeño (90%) durante la fase “B” (Rasmussen, 2004).

El sobreordeño produce formación de anillos en la base del pezón y la decoloración del mismo (Hillerton *et al.*, 2002), mayor pérdida de queratina (Gleeson *et al.*, 2003).

En ganado caprino y Ovino (Alejandro *et al.*, 2014) observaron que después de un sobreordeño de 2 minutos, el espesor de las paredes del pezón y la longitud del canal del pezón se incrementó significativamente comparado con un ordeño sin sobreordeño. Esta variación de los tejidos del pezón podría alterar los mecanismos de defensa del pezón aumentando el riesgo de nuevas infecciones intramamarias.

Para evitar el sobreordeño, se han diseñado sistemas de corte automático de vacío en función del flujo de leche o de un tiempo de ordeño máximo. Estos sistemas son ampliamente usados en ganado vacuno reduciendo significativamente el riesgo de sobreordeño (Gleeson *et al.*, 2003). Sin embargo su uso en pequeños rumiantes no está tan extendido (Tangorra *et al.*, 2010, Menzies, 2000).

Poulet (2013) indica que el corte automático de vacío tiene las siguientes ventajas:

- Disminuye el esfuerzo físico realizado durante el ordeño, al suprimir la retirada manual del juego de ordeño.
- Aumenta del rendimiento de ordeño, debido a la automatización de la tarea y la limitación de la duración del ordeño.

- Permite la realización de otras labores como el sellado de pezones tras el ordeño.
- Homogeneidad en el final del ordeño.
- Limita el sobreordeño.

Tipos de corte automático de vacío usados en pequeños rumiantes son:

1.1. Corte de vacío por tiempo

El corte de vacío por tiempo comenzó a utilizarse para ovejas en Francia (Roquefort) aproximadamente hace más de 30 años. De esta forma los ganaderos podían manejar un mayor número de unidades de ordeño sin incrementar el riesgo de sobreordeño.

La retirada por tiempo consiste en asignar un tiempo de ordeño máximo (normalmente 2-3 minutos) después del cual se acciona el corte de vacío. De esta forma no es necesario ningún dispositivo de estimación de flujo de leche, y sólo es necesario un sistema de corte ubicado en el colector o en la conexión entre la tubería de leche y los tubos largos de leche. Aparte del sistema de corte de vacío también es posible incorporar sistemas de retirada del juego de ordeño. Los sistemas más modernos tienen distintos programas que permiten al operario añadir un tiempo extra de ordeño a cada animal.

1.2. Corte de vacío por flujo

Este sistema se comenzó a instalar en pequeños rumiantes hace poco más de 20 años. En este caso, el corte de vacío se realiza cuando el flujo de leche es menor que el umbral de flujo predeterminado (normalmente entre 100-250 gr/min). Aunque el sistema de corte de vacío por flujo se basa en umbrales de flujos pre definidos, existen otras variables que también tienen que ser definidas para el correcto funcionamiento de la retirada.

1.2.1 Tiempo de ordeño mínimo: Desde que el juego de ordeño es colocado en el animal hasta que la leche alcanza el medidor o sensor de flujo, pasa un tiempo determinado, entre 25 y 40 s en ganado caprino (Poulet, 2013). Para evitar que se produzca un corte de vacío al inicio del ordeño, antes que el flujo de leche se haya estabilizado, se debe tomar en cuenta este tiempo inicial.

1.2.2 Tiempo de retardo o demora: Para evitar que el sistema de corte de vacío se active debido a una bajada momentánea del flujo de leche, los dispositivos de corte se configuran para tener un tiempo de retardo. El tiempo de retardo sirve para evitar interrupciones en

el ordeño y dobles puestas en caso de una disminución puntual del flujo de leche debida a entradas de aire o caídas de pezoneras.

En los últimos años se han realizado algunas investigaciones en pequeños rumiantes sobre el corte automático de vacío. Tangorra *et al.* (2010) encontraron que la producción de leche en cabras ordeñadas con sistemas de corte automático de vacío (flujo 70 gr/min y 10 segundos de tiempo de retardo) era mayor comparado con cabras ordeñadas con retirada manual de pezoneras. En España, algunos autores han realizado investigaciones para determinar la mejor combinación de flujo de corte y tiempo de retardo para cabras y ovejas. Bueso-Ródenas *et al.* (2014a, 2014b) probaron distintos flujos de corte (100, 150, 200, 250 gr/min) y 3 tiempos de retardo (10, 15 y 20 segundos) en cabras y ovejas. A partir de los resultados obtenidos, las mejores combinaciones de flujos y tiempo de retardo (Cabras: 100–150 gr/min y 10s; Ovejas: 150gr/min y 20s - 200 gr/min y 10 s) se utilizaron en una prueba a largo plazo comparando con la retirada manual (Bueso-Ródenas *et al.*, 2015; Romero *et al.*, 2015). En estos experimentos a largo plazo los investigadores encontraron que la retirada automática mediante flujo mantuvo los valores de leche ordeñada, el tiempo de ordeño individual, reduciendo los efectos del ordeño mecánico en el estado del pezón, a la vez no afectó al estado sanitario de la glándula mamaria. La recomendación final de los autores es utilizar para ganado caprino 100 o 150 gr/min con un tiempo de retardo de 10 segundos y 150 gr/min y 10 segundos para ovejas Manchegas.

Por otro lado, los sistemas de corte automático de vacío pueden combinarse con sistemas de parada de pulsación (para reducir el ruido dentro de la sala de ordeño y alargar la vida útil de los pulsadores), aspiración automática de los residuos de leche en los juegos de ordeño, brazos basculantes automáticos para aumentar el rendimiento y disminuir los tiempos muertos entre ordeños (para equipos instalados en línea media).

2. MEDIDORES ELECTRÓNICOS DE LECHE

La medición de la producción de leche es un requisito básico para el manejo del ganado y también es un elemento indispensable para la mejora y los programas de selección (ICAR 2014). En pequeños rumiantes el uso de automatismos en la sala de ordeño no está muy extendido (Díaz *et al.*, 2004; Gutiérrez and Romero 2006). Sin embargo, al igual que con el corte automático de vacío, en los últimos años se ha incrementado el uso de medidores electrónicos específicamente diseñados para cabras y ovejas.

Con la ayuda de los medidores electrónicos de leche, los ganaderos ya no solo disponen de la información recogida en los controles lecheros, si no que pueden conocer diariamente la producción de leche de cada animal, y tomar decisiones en base a esta información.

Los primeros medidores utilizados en las ganaderías lecheras de cabras y ovejas eran del tipo volumétrico. Estos medidores recogían la totalidad de la leche de cada animal y gracias a una escala graduada, se medía la producción de leche. Debido a su tamaño, estos medidores dificultan el trabajo de los operarios durante el ordeño, a su vez el riesgo de rotura o de sufrir algún desperfecto debido a posibles golpes era considerable. Por otro lado, estos medidores no permitían la automatización de la medición ni del almacenamiento de la información registrada.

Con el objetivo de reducir el tamaño y mejorar el manejo de los medidores, se desarrollaron medidores de leche porcentuales. Estos medidores solo recogían una parte (porcentual) de la producción de leche del animal y gracias a una escala graduada se medía la producción de leche. Para el correcto funcionamiento del medidor es necesario que se instale adecuadamente de forma que el medidor este colocado verticalmente. Al igual que los medidores volumétricos no es posible automatizar la medición ni la recogida de datos. Sin embargo, el mayor inconveniente de este tipo de medidores es que no están aprobados por ICAR para su uso en controles lecheros oficiales de cabras y ovejas.

Los medidores de leche electrónicos para cabras y ovejas se componen de un sensor, una placa o tarjeta electrónica y una pantalla o display. El sensor mide el volumen, peso o flujo de leche. La información recogida por el sensor es enviada a la tarjeta electrónica donde es analizada, procesada y enviada a la pantalla para su visualización y/o a un ordenador donde es almacenada. La tarjeta electrónica y la pantalla o display puede estar integrada o no dentro del cuerpo del sensor.

Los medidores de leche no solo tienen la función de medir la producción individual de leche de cada animal, sino que también deben permitir extraer una muestra representativa de la leche suficiente para poder analizar la composición de la leche (ICAR 2014).

Los medidores de leche deben estar diseñados para permitir una fácil lectura y manejo del equipo por parte del operador cuando está conectado al equipo de ordeño. Así mismo, el medidor de leche debe ser resistente a todas las condiciones que puedan encontrarse en el entorno habitual de la sala de ordeño. Todas las partes sujetas a desgaste o rotura deben ser fácilmente reemplazables (ICAR 2014).

2.1. Medidores electrónicos aprobados para control lechero oficial

En España, todos los medidores utilizados en el control lechero oficial (dinamómetros, balanzas, volumétricos, porcentuales y electromagnéticos, etc.) deben estar aprobados por la Comisión Nacional de Control Lechero o el Centro Autonómico de Control Lechero siguiendo las normas del Comité Internacional para el Control del Rendimiento Animal (ICAR) (BOE del 19 de julio de 2012). Las últimas directrices de ICAR (2014) indican que:

- Para el control lechero oficial, sólo son validas las mediciones realizadas con medidores de leche que incluyan toma de muestras o analizadores de leche aprobados por ICAR.
- Todos los medidores os sistemas de medición para ser usados en control lechero oficial deben ser aprobados por ICAR.
- Los miembros de ICAR solo pueden aprobar el uso de un medidor de leche que haya sido antes aprobado por ICAR. http://www.icar.org/pages/Sub_Committees/sc_recording_devices_approved_milkmeters_sheep-goats.htm.

3. IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA

En el año 2004 se publico en Europa (CE 21/2004) el primer reglamento sobre la identificación electrónica en pequeños rumiantes. El reglamento indicaba que cada país miembro tenía que establecer un sistema para la identificación y registro de las cabras y ovejas. Desde entonces todos los países europeos han adaptado y/o creado su propia normativa y hoy en día la mayor parte de los animales están identificados electrónicamente.

En España, el sistema de identificación electrónica de los animales depende de las comunidades autónomas y es posible utilizar, bolos ruminales, crotales en la oreja, pulseras electrónicas y microchip inyectables. Todos estos sistemas deben de cumplir con la normativa ISO. Los principales tipo de identificación electrónica usados en pequeños rumiantes son el Half Duplex (HDX) y Full Duplex (FDX). Hoy en día la mayoría de los lectores (móviles y estáticos) utilizados en pequeños rumiantes pueden leer las dos tipos de transponder (HDX y FDX).

Al incorporar la identificación electrónica en los animales, las posibilidades de automatizar algunas tareas en las granjas de pequeños rumiantes aumentaron de forma notable. Hoy en día, en muchas granjas es posible ver sistemas de identificación conectados al equipo de ordeño y al ordenador en donde los datos de los animales se registran,

almacenan y están a disposición del ganadero para ser utilizados en la gestión del rebaño. Pero no solo los equipos de ordeño están conectados a sistemas de identificación, sino también otros equipos auxiliares como la puerta selectora. De esta forma es posible automatizar y llevar un mejor control de una gran parte de las tareas diarias en una explotación de caprino y ovino lechero.

4. SOFTWARE DE GESTIÓN DEL REBAÑO

Con la introducción de automatismos e identificación electrónica en las salas de ordeño de pequeños rumiantes, es necesario sistemas que integren, recojan y procesen toda la información obtenida. Estos sistemas se basan en un hardware y un software. El componente físico o hardware participa en la conexión e interface de los dispositivos de la granja (sala de ordeño, puerta selectora, estación de alimentación, etc.). El software recoge y almacena toda la información proveniente de la sala de ordeño y además tiene la posibilidad de completar la información con la introducción manual por parte del usuario de los datos de todos los eventos ocurridos en la explotación necesarios que pueden ser usados para la gestión de la granja.

Con la mayoría de software de gestión el usuario obtendrá información sobre:

- Reproducción.
- Estado sanitario.
- Producción.
- Alimentación.
- Eficiencia del ordeño.
- Etc.

En la actualidad existen soluciones para acceso remoto a los sistemas de gestión del rebaño, de esta forma el ganadero puede estar siempre conectado y tener información en tiempo real de lo que sucede en la granja. Además, el acceso remoto permite que en caso de incidencias el técnico pueda revisar inmediatamente el sistema y determinar si el problema puede resolverse remotamente o es necesaria la visita del servicio técnico.

5. PUERTA SELECTORA

En explotaciones de tamaño medio o grande, la tarea de separar animales, ya sea para formar nuevos grupos, realizar tratamientos veterinarios,

controles periódicos, etc., se realiza de forma rutinaria. Sin embargo, para reducir el tiempo y la mano de obra necesaria para realizar esta tarea así como también reducir el estrés de los animales, existen equipos llamados “puerta selectora” que separan automáticamente a los animales. Existen diversos tipos de puertas selectoras, pero la mayor parte tienen un sistema de funcionamiento muy similar. La puerta selectora se coloca después de los pasillos de salida de la sala de ordeño, en un área especialmente diseñada para evitar que se entorpezca el tráfico de animales. El animal entra en la puerta selectora donde es identificado (alrededor de 3 segundos), en base al número del animal el sistema ya sabe si el animal debe ser separado y enviado hacia una zona especial (área de separación) o de lo contrario el animal puede continuar su camino hacia el corral.

Los animales a separar pueden ser seleccionados:

- Antes del ordeño, separación programada en base a los datos del animales y al manejo realizado en la granja.
- Durante el ordeño, si el operario detecta algún problema en el animal y debe ser separado (mamitis, otros problemas de salud, etc.).

CONCLUSIONES GENERALES

El uso de automatismos en el ordeño mecánico de ovejas y cabras ayuda a mejorar el rendimiento de las explotaciones, reduciendo el gasto en mano de obra, aumentando el rendimiento de los equipos y proporcionando información necesaria para tomar la mejor decisión en el momento más adecuado.

BIBLIOGRAFÍA

- Alejandro, M., Roca, A., Romero, G. y Díaz, J.R. 2014. Effects of overmilking and liner type and characteristics on teat tissues in small ruminants. *J. Dairy Res.* 81 (2): 215-222.
- Bueso-Ródenas, J, Arias, R., Rodríguez, A.M., Romero, G y Díaz, J.R. 2014 Effect of the settings of two automatic cluster removers (ACRs) on the milking efficiency of Manchega ewes. *S. Rumin Res.* 120: 224–230.
- Bueso-Ródenas, J., Romero, G., Roca, A. y Díaz, J.R. 2014. Effect of one automatic cluster remover (ACR) setting on milking efficiency on Murciano-Granadina goats. *Liv. Sci.*: 161, 193-200.
- Bueso-Ródenas, J., Romero, G., Arias, R., Rodríguez, A.M., Díaz, J.R. 2015. Effect of the Automatic Cluster Removers (ACRs) in the Milking of Manchega Ewes during Lactation. *J. Dairy Sci.* 98: (6) 3887-3895.

- Díaz, J., Romero, G., Perez, M., Soriano, J., Moya, F., Peris, C. y Fernández, N. 2004. Caracterización de las instalaciones de ordeño mecánico en explotaciones de caprino de la región de Murcia. I salas de ordeño y tipos de maquinas. Libro de actas de XXIX Jornadas Científicas y VII Internacionales de la SEOC. Lleida Diputación de Lleida, Lleida.
- Gutierrez, J. y Romero, G. 2006. Caracterización de las salas de ordeño mecánico de las explotaciones de la asociación de ganado ovino de la raza Churra (ANCHE). Libro de actas de XXXI Jornadas Científicas y X Internacionales de la SEOC. Zamora, Junta de Castilla y León, Castilla y León.
- Gleeson, D.E., Jilroy, D., O'Callaghan, E.J., Fitzpatrick, E. Y Rath, M.V. 2003. Effect of machine milking on bovine teat sinus injury and teat canal keratin. *Irish Vet J.* 56(1): 46-50.
- Hillerton, J., Pankey, J. y Pankey, P. 2002. Effect of over-milking on teat condition. *J. Dairy Res.* 69: 81-84.
- International Committee for Animal Recording. 2014. ICAR Guidelines 2014. http://www.icar.org/pages/recording_guidelines.htm
- Menzies, P.I. 2000. Mastitis of sheep-overview of recent literature, In Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium., Guelph, 68-76.
- Natzke, R.P., Everett, R.W. y Bray, D.R., 1982. Effect of overmilking on udder health. *J. Dairy Sci.*, 65: 117-125.
- Poulet, J.L. 2013. Dépose automatique des faisceaux trayeurs en traite caprine. 4^a Jornadas Técnicas Caprinas, Institute d l'Elevage. http://idele.fr/fileadmin/medias/Documents/4-Depose_caprine.pdf
- Rasmussen, M.D. 2004. Overmilking and teat condition. National Mastitis Council, Annual Meeting Proceedings 169-175.
- Romero, G., Bueso-Rodenas, J., Gascó, P., Díaz, J.R. 2015. Effect of the Automatic Cluster Removers (ACRs) in the Milking of Murciano-Granadina Goats during Lactation. *S. Rumin. Res.* 128: 54-58.
- Tangorra, F., Costa, A. y Guidobono, A. 2012. Preliminary results of a field study on goats milk yield and lactation persistency as affected automatic cluster removals. International Conference Ragusa, Italy. Work Safety and Risk Prevention in Agro-food and Forest Systems 592-598.

FARM MANAGEMENT AND AUTOMATION DEVICES IN SHEEP AND GOAT FARMS

SUMMARY

Usage of automatic devices in milking parlour for sheep and goats is becoming more common. Automation can reduce milking time, saving labour force and simplifying milking routine. In combination with animal identification, farmer can register, store and analyze, all animal data coming from milking equipment. Main automation system/equipments that are available for dairy sheep and goats farmer are: shut-off system, milk recording, animal ID, flock management software and sort gates. The above systems can help farmer to reduce overmilking, increase the health status of the animal, save time on daily task and collect necessary info to make the right decision at the right time.

XL

Congreso
Nacional

XVI

Congreso
Internacional



SEOC 2015

COMUNICACIONES





ALIMENTACIÓN



CASTILLO, C.¹; MANTECÓN, A.R.²; SOTILLO, J.³; GUTIÉRREZ, C.³; ABUELO, A.¹ y HERNÁNDEZ, J.¹

¹Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria de Lugo, USC.

²Instituto de Ganadería de Montaña CSIC-ULE, Grulleros, León.

³Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es ofrecer los primeros resultados *in vivo* relativos al consumo de *P. oceanica* en sustitución de paja de cebada en ganado caprino productor de leche (raza Murciano-Granadina), valorando si afecta a la producción (cantidad/calidad de la leche) así como al medio interno (perfil energético y estrés oxidativo). Para ello se evaluaron tres lotes de animales: un grupo que recibía la ración propia de este ganado (concentrado, heno y 450 g de paja/animal/día); otro que recibía concentrado, heno, 225 de paja y 225 de *P. oceanica* y un tercer lote donde la paja era sustituida totalmente por hojas secas de *P. oceanica*, recibiendo 450 g/animal/día. Los resultados mostraron que la incorporación de esta planta no tuvo efectos negativos en la cantidad de leche. En cuanto a su calidad apreciamos un mayor contenido graso y menor recuento de células somáticas en los animales suplementados. Desde el punto de vista metabólico, no se registraron cambios negativos asociados al consumo de la planta marina. Por tanto, concluimos que los restos de *P. oceanica* pueden ser administrados a las cabras de raza Murciano-Granadina en sustitución de la paja de cebada.

Palabras clave: Cabras, *P. oceanica*; leche; metabolismo; estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN

Una característica importante de la producción de cabras en la zona mediterránea es su dependencia de los pastos. En estas zonas semiáridas, la producción animal es cada vez más dependiente del aporte suplementario de fuentes forrajeras. Dado el coste que están adquiriendo estos productos los productores han de buscar fuentes alternativas que hagan posible la obtención de beneficios en la explotación. Uno de esas fuentes la constituyen las plantas marinas, abundantes en las costas del Mediterráneo. El objetivo de la presente comunicación es aportar los primeros datos *in vivo* acerca del empleo de hojas secas de *P. oceanica* como sustituto de la paja de cebada en una explotación de cabras Murciano-Granadina, valorando su efecto sobre el estado de salud (a través de variables metabólicas) y producción (cantidad y calidad de la leche).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo esta acción, elegimos una zona turística como La Manga del Mar Menor (Murcia), para lo que hubo que solicitar los permisos pertinentes a los Ayuntamientos de San Javier y Cartagena en lo que respecta a la recogida de muestras, ya que esta zona se halla protegida por la Red Natura-2000. Una vez obtenidos, se seleccionaron seis puntos de muestreo aleatorios, siempre por encima de la línea de playa, obteniéndose las muestras en el mismo día. Una vez recogidas se procedió a su limpieza con agua dulce, se secaron al sol y se almacenaron. Elegimos 24 hembras de raza Murciano-Granadina, no preñadas y que se hallaban en la fase final de lactación, con una edad media de 4 años y un peso medio de 42,5 kg. Este estudio se llevó a cabo en las instalaciones del IMIDA de la Región de Murcia, para lo que se solicitó el informe favorable del Comité de Bioética de la Universidad de Murcia. El procedimiento comenzó desde la semana 16 de lactación hasta la semana 22, una quincena antes de que fueran sometidas a inseminación artificial. Los animales fueron divididos en tres lotes de estudio: 1) Grupo control (CTRL, n=8) formado por hembras que recibían 1,4 kg de concentrado (ver tabla 1) complementado con alfalfa (400 gr) y paja de cebada (450 gr); 2) Grupo experimental 1 (PO-225, n=8) formado por animales que recibían la misma cantidad de concentrado y alfalfa, pero en este caso sólo 225 gr de paja de cebada y otros 225 gr de hojas secas de *P. oceanica*; 3) Grupo experimental 2 (PO-450, n=8) formado por animales que recibían la misma cantidad de concentrado y alfalfa que los grupos anteriores, pero ahora la cebada era completamente sustituida por *P. oceanica* recibiendo 450 gr. Cada grupo de animales permaneció separado durante todo el estudio. Para cada uno de ellos el concentrado

y la alfalfa eran ofrecidos conjuntamente en el mismo contenedor en dos tiempos: a las 9,30 y a las 14,00 horas. El agua estaba disponible *ad libitum*. La recogida y el pesado del forraje (paja y *P. oceanica*) se realizó a las 7,30 horas, antes de la distribución de la comida fresca. No se obtuvieron residuos del contenedor con concentrado y alfalfa.

Tabla 1. Ingredientes y composición química del concentrado empleado en el estudio.

Ingrediente (g/kg MS)	
Cáscara de trigo	266,5
Soja	250
Cebada	150
Malta	80
Aceite de girasol (30%)	70
Centeno	69,9
Habas	41,6
Harina de maíz	36,7
Melaza	10
Carbonato cálcico	14,9
Complejo vitamínico-mineral ^a	10,4
Composición química (g/kg MS)	
Energía neta de lactación (Mcal/kg)	1,5
Proteína cruda (PC)	175,5
Fibra neutro-detergente (FND)	366,4
Fibra ácido detergente (FAD)	190,8
Extracto etéreo (EE)	30,9
Cenizas	76,0

^aContenido del complejo: (kg/MS): 10 g Ca; 5,7 g P; 3,4 g Mg; 0,72 mg Se; 154 mg Zn; 14.900 UI Vitamina A y 3.100 UI Vitamina D.

Los valores productivos considerados fueron la producción de leche así como el análisis de sus componentes (proteínas, grasa, lactosa, extracto seco magro, y recuento de células somáticas) al principio (semana 16) y al final de la experiencia (semana 22). Los valores metabólicos que analizamos hacían referencia a su perfil energético; para ello extrajimos sangre semanalmente (7 tomas) para determinar los valores de glucosa, β -hidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos libres (AGL). Todas estas determinaciones fueron realizadas sobre suero y empleando kits estandarizados. Los datos recogidos fueron procesados estadísticamente mediante ANOVA empleando el programa estadístico SPSS 19, declarando significativo todos aquellos resultados encuadrados en una $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la suplementación con *P. oceanica* sobre la cantidad y calidad de leche producida

La cantidad media de forraje ingerido por los animales (paja y posidonia; el heno queda excluido) fue de 300 ± 10 gr/animal-día en lo que respecta a la paja de cebada en el grupo CTRL, mientras que en el grupo PO-450 (consumidora sólo de *P. oceanica*) la ingesta media fue de 126 ± 12 gr/animal-día. En el lote PO-225 (mezcla de paja y *Posidonia*) la ingesta media fue de 187 ± 12 gr/animal-día en lo que respecta a la paja y de 47 ± 15 gr/animal-día en lo que respecta a *P. oceanica*.

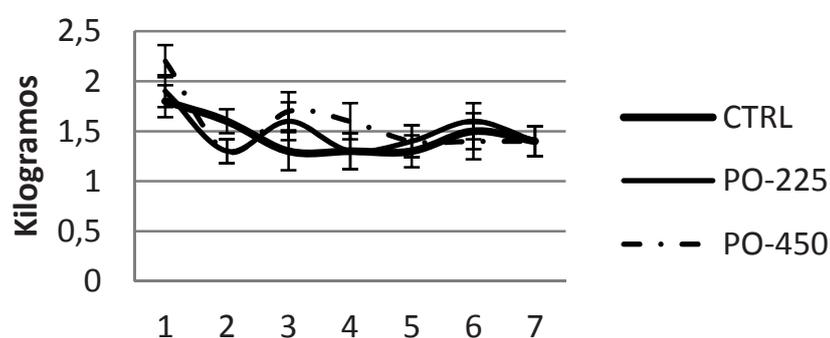


Figura 1. Cambios en la producción de leche entre los tres grupos a lo largo del estudio.

En la Figura 1 se aprecia un progresivo descenso en la producción, atribuible al propio estado fisiológico (fin de lactación) sin que la suplementación con la *P. oceanica* tuviera efecto significativo.

Los datos referentes a la calidad de la leche al principio (semana 16) y final de la experiencia (semana 22) aparecen en la tabla 2. Ninguno de los componentes, a excepción de los niveles de grasa, manifestó cambios significativos, lo que indica que aprovechar este residuo como fuente forrajera no lleva consigo efectos perjudiciales.

Tabla 2. Efectos de la adición de hojas de *P. oceanica* sobre los parámetros lecheros.

Item	Grupo ^a			Valor P
	CTRL	PO-225	PO-450	
Grasa (g 100/g)				
Semana 16	4,6±0,17	5,3±0,43	5,2±0,27	0,309
Semana 22	4,7±0,26	6,1±0,31	5,9±0,28	0,006
PROTEINA (g 100/g)				
Semana 16	3,8±0,11	4,3±0,16	4,0±0,17	0,105
Semana 22	3,8±0,14	4,2±0,09	4,1±0,13	0,152
ESM ^b (g 100/g)				
Semana 16	9,4±0,12	9,8±0,18	9,5±0,15	0,187
Semana 22	9,3±0,14	9,6±0,07	9,5±0,10	0,147
LACTOSA (g 100/g)				
Semana 16	4,9±0,05	4,8±0,06	4,8±0,03	0,715
Semana 22	4,8±0,05	4,7±0,04	4,7±0,07	0,508
RCS ^c (Log ₁₀)				
Semana 16	5,05±0,57	6,1±0,46	6,6±0,36	0,363
Semana 22	6,4±0,36	6,0±0,40	6,5±0,12	0,651

^aCTRL: Grupo control group (no suplementado); PO-225: cabras suplementadas con 225 gr de *P. oceanica*; PO-450: cabras suplementadas con 450 gr de *P. oceanica*.; ^bESM: Extracto seco magro de la leche; ^cRCS: Transformación logarítmica del recuento de células somáticas.

Efecto de la suplementación con *P. oceanica* sobre el metabolismo energético

La Tabla 3 muestra la evolución de los parámetros relacionados con el metabolismo energético a lo largo del periodo de estudio.

Tabla 3. Efectos de la adición de hojas de *P. oceanica* sobre los parámetros energéticos.

Parámetro	Grupo/Toma	1	2	3	4	5	6	7
Glucosa (mmol/L)	CTRL	3,1±0,10	3,1±0,12	2,9±0,16	3,9±0,14	3,5±0,12	3,9±0,09	3,5±0,15
	PO-225	3,5±0,13	3,7±0,11	3,3±0,15	3,2±0,10	3,7±0,24	3,5±0,16	3,8±0,21
	PO-450	4,0±0,18	3,0±0,11	3,1±0,13	2,9±0,15	3,9±0,20	3,4±0,10	3,7±0,15
AGL (mmol/L)	CTRL	0,6±0,08	0,6±0,12	0,6±0,07	0,3±0,03	0,5±0,07	0,5±0,06	0,3±0,01
	PO-225	0,3±0,08	0,3±0,04	0,3±0,03	0,3±0,04	0,4±0,07	0,3±0,02	0,4±0,05
	PO-450	0,4±0,08	0,3±0,04	0,5±0,11	0,3±0,03	0,3±0,04	0,3±0,04	0,4±0,04
BHB (mmol/L)	CTRL	0,4±0,04	0,3±0,04	0,4±0,05	0,5±0,05	0,4±0,03	0,5±0,06	0,5±0,05
	PO-225	0,5±0,04	0,6±0,02	0,5±0,05	0,5±0,04	0,6±0,07	0,5±0,07	0,4±0,03
	PO-450	0,5±0,04	0,5±0,07	0,4±0,05	0,5±0,05	0,5±0,07	0,5±0,03	0,6±0,04

El análisis de varianza mostró, en el caso de la glucemia, efecto significativo del efecto tiempo (T, $P < 0,001$) así como de la interacción TxTR ($P < 0,001$) pero no de la suplementación (TR). Para los niveles de AGL, el análisis estadístico señaló efecto significativo de la suplementación (TR, $P < 0,001$) tendiendo a la significación los efectos de T ($P = 0,055$) y la interacción TxTR ($P = 0,090$). Finalmente, para los niveles de BHB, no encontramos efecto significativo del efecto T ($P = 0,385$) pero sí de la suplementación (TR, $P = 0,003$) y la interacción TxTR ($P = 0,025$). Lo primero a destacar es que los valores metabólicos recogidos en este estudio quedaron siempre encuadrados dentro de los rangos fisiológicos para ganado caprino, por lo que la primera conclusión que se obtiene es que la suplementación con bancales de *P. oceanica* no afecta negativamente al metabolismo energético de los animales. Los estudios llevados sobre animales de experimentación mostraron que *P. oceanica* tenía efectos hipoglucemiantes, hecho que no queda evidenciado en nuestro estudio. Por otra parte, los valores de AGL van íntimamente ligados a los valores de BHB, como metabolito intermediario en la cadena de oxidación de los ácidos grasos. Para nosotros los mayores valores de BHB en los animales suplementados son la consecuencia de una mayor producción de ácidos grasos volátiles, fruto del consumo de un elemento tan fibroso como es *P. oceanica*.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio los datos obtenidos nos permiten considerar que los residuos procedentes de los bancales de *P. oceanica* que llegan todos los veranos a las playas pueden ser utilizados como fuente forrajera en pequeños rumiantes, sin que vaya en detrimento del estado de salud del animal ni de la calidad de su leche.

BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists (1999). Official methods of analysis, 16th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (2003). Official methods of analysis, 17th edition. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- Castillo, C., Mantecón, A.R., Sotillo, J., Gutiérrez, C., Abuelo, A., Hernández, J. (2015). *Posidonia oceanica* banquettes as a substitute for straw in dairy goat's ration. Metabolic and productive effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7129>
- Lu, D.C., Kawas, J.R., Mahgoub, O.G. (2004). Fiber Digestion and utilization in Goats. 2004. <http://hilo.hawaii.edu/uhh/vcaa/documents/FiberDigestioninGoatsMay2004.pdf> [13 march 2014].

- Torbatinejad, N., Annison, G., Rutherford-Makwick, K., Sabine, J.R. (2007). Structural Constituents of the Seagrass *Posidonia australis*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55, 4021-4026.
- Torbatinejad, N., Sabine, J.R. (2001). Laboratory Evaluation of some marine plants on South Australian Beaches. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 3, 91-100.

***Posidonia oceanica* IN DAIRY GOAT ´S RATION: METABOLIC AND PRODUCTIVE RESULTS**

SUMMARY

The marine plant *Posidonia oceanica* (L.) Delile can be a source of fibre to increase the efficiency of product costs. The aim of the present study was to assess the productive (milk production) and metabolic (energy profile and oxidative stress) effects of *P. oceanica* into the ration of dairy goats as a substitute for straw. With this purpose we studied three groups of goats: a group receiving the common daily ration (concentrate, hay, and barley straw at 450 g/animal/day); a second that received concentrate, hay, barley straw (225 g/animal/day) and dried leaves of *P. oceanica* (225 g/animal/day); and a third one where barley straw was replaced completely by dried *P. oceanica* leaves, receiving 450 g/animal/day. Our results show that supplementation with *P. oceanica* had no detrimental effects on the milk production and the metabolic status of goats. Goats fed with *P. oceanica* produced more milk-fat and had a lower somatic cell count in milk, and showed a decreased risk of oxidative. We conclude that goat can fed with *P. oceanica* without detrimental effects on milk production and health; therefore *P. oceanica* can be a substitute for barley starw in the nutrition of goats.

Key words: Goats, *P. oceanica*, milk, metabolism, oxidative stress.

CARACTERIZACIÓN NUTRITIVA, INGESTIÓN Y EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN CABRAS MURCIANO-GRANADINAS DEL FORRAJE MARALFALFA (*PENNISETUM SP*) VS. ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*); DATOS PRELIMINARES

CRISCIÓN, P.¹; VALLADARES, E.J.¹; PÉREZ-BAENA, I.²; MARTÍ, J.V.²; PALOMARES, J.L.²; ESTELLÉS, F.² y FERNÁNDEZ, C.^{1,*}

¹Centro de Investigación ACUMA. Departamento de Ciencia Animal.

²Institut de Ciència i Tecnologia Animal. Universitat Politècnica de València. C/ Camí de Vera, s/n. 46022 (València)

*cjfernandez@dca.upv.es

RESUMEN

Se han estudiado las características nutritivas, ingestión y efecto sobre la producción y composición de leche de 10 cabras Murciano-Granadinas, del pasto maralfalfa (MARH) henificado (*Pennisetum sp.*) en comparación al forraje de alfalfa (ALFH) henificado (*Medicago sativa*). El pasto MARH, caracterizado por una gran productividad en campo, presentó un contenido en Materia Orgánica del 89,9%, ligeramente inferior al de ALFH (91,5%). La fracción proteica alcanzó valores similares en ambos forrajes (14,8 vs. 15,1%, en MARH y ALFH respectivamente), destacando la superior fracción de Fibra Neutro Detergente en la MARH (61,3%) respecto a la ALFH (50,0%). Aunque el consumo de materia seca de la ración con MARH fue inferior ($P < 0,05$) a la de ALFH (1.630 g vs. 1.749 g, respectivamente) en general la MARH fue bien aceptada por los animales. La producción de leche no sufrió variaciones cuando las cabras se alimentaron con MARH como forraje respecto a la ALFH (1757±56 vs. 1741±56 g/día, respectivamente), encontrándose únicamente diferencias ($P < 0,05$) en el componente proteico de la leche (MARH: 4,1% y ALFH: 4,4%). Con los resultados preliminares obtenidos se puede concluir que el forraje MARH presenta una composición similar a la ALFH, siendo bien aceptada por cabras Murciano-Granadinas en lactación sin afectar de manera relevante a su producción y composición de la leche.

Palabras Clave: alfalfa, digestibilidad, maralfalfa, Murciano-Granadina.

INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de toda actividad ganadera es la obtención del máximo rendimiento económico. La búsqueda de forrajes alternativos que consigan reducir los costes de las raciones manteniendo la productividad del ganado, es un objetivo anhelado desde antiguo (Luna *et al.*, 1984) que sigue estando de actualidad (NEIKER, 2014). Existen multitud de forrajes de calidad susceptibles de emplearse en las explotaciones de caprino y entre ellos, suscita gran interés el pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*). Esta gramínea perenne originaria de zonas tropicales se está cultivando con éxito en la península y las islas Canarias (Morales, 2009) con el objetivo incrementar la producción forrajera local. La maralfalfa se caracteriza por tener un elevado potencial de crecimiento, llegando a alcanzar portes elevados (hasta 4 metros) en cortos periodos de tiempo. Presenta producciones anuales elevadas, de hasta 285 toneladas por hectárea (60 Tn MS / Ha), a la vez que tiene un buen valor nutritivo (Márquez *et al.*, 2007). En función del momento de ser cosechada (Clavero y Razz, 2009) puede alcanzar elevados niveles de proteína bruta y azúcares libres, resultando un forraje muy palatable para los animales (Méndez y Álvarez, 2013), conservable mediante ensilado sin necesidad de aditivos (datos propios sin publicar). El objetivo de este trabajo es la caracterización nutritiva de la maralfalfa henificada (MARH), analizando su aceptabilidad en cabras Murciano-Granadinas, así como su efecto sobre la producción de leche en comparación con la alfalfa henificada (ALFH).

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo en la granja experimental de pequeños rumiantes del Institut de Ciència i Tecnologia Animal de la Universitat Politècnica de València. Se utilizaron 10 hembras de raza Murciano-Granadina ($45 \pm 3,5$ kg de Peso Vivo; PV) en media lactación. Las cabras se distribuyeron en dos grupos homogéneos (L1 y L2) en PV, producción de leche ($1,8 \pm 0,1$ l) y días de lactación (180 ± 4 días). Al grupo L1 se le suministró una ración a base de alfalfa henificada (1,0 kg/animal y día) como forraje y pienso comercial (1,5 kg/ animal y día). En el grupo L2, el forraje ofrecido fue maralfalfa henificada (1,0 kg / animal y día). Debido a que el tamaño de partícula es una característica que afecta a la digestibilidad ruminal (Sampelayo *et al.*, 1998, Sauvante *et al.*, 1999) de la dieta, los dos forrajes se picaron para homogenizar su tamaño de partícula (5-10 mm). Las raciones se pesaron con una balanza con un error de $\pm 0,1$ g. Los animales se adaptaron a las raciones en locales colectivos durante 7 días, y posteriormente se alojaron en jaulas metabólicas individuales (53 x 96 x 143 cm), durante el resto

del período experimental (7 días adaptación en jaula, 7 días ensayo de digestibilidad y 7 días de control de respirometría). Las jaulas disponían de comederos individuales externos tipo tolva, y bebederos automáticos tipo cazoleta de nivel constante. Asimismo estaban equipadas con bandejas que permitieron la separación y el control de heces y orina durante los 7 días del ensayo de digestibilidad. Se controló diariamente la producción de leche obtenida con una ordeñadora portátil (FLACO, 20-400 l/min), de 60 kg de capacidad. Los análisis de composición de la leche fueron realizados por el Laboratori Interprofesional Lleter de la Comunitat Valenciana. El experimento se repitió dos veces (diseño experimental cruzado), intercambiando las dos dietas con dos grupos experimentales L1 y L2, eliminando de este modo el efecto del animal. Los resultados se analizaron mediante un modelo mixto (PROC MIXED) del paquete estadístico SAS (SAS, 2010).

RESULTADOS PRELIMINARES

Los resultados del análisis químico del forraje MARH y ALFH se muestran en las Tabla 1. La MARH presentó una composición similar a la ALFH en proteína (14,8 *vs.* 15,1% respectivamente), materia orgánica (89,9 *vs.* 91,5%, respectivamente) y extracto etéreo (1,8 *vs.* 1,2, respectivamente). Sin embargo, en las fracciones de fibra se aprecia una mayor cantidad de FND en la MARH (61,3 *vs.* 50,0 %) y ADF (36,60 *vs.* 31,4%), lo que indica mayor presencia de fibra indigestible, y por ello probablemente una menor ingestión. La cabras ingirieron mayor cantidad ($P < 0,05$) de la dieta de ALFH (1.749 ± 33 g) que la de la MARLF (1.603 ± 33 g). Estos niveles de ingestión están en la línea de los obtenidos por Rubert-Alemán *et al.*, (2000) cuando se ofrecieron 3.000 g de materia seca/día a cabras Murciano-Granadinas en lactación. A pesar de que en un principio se podría pensar que el nivel de ADL será superior en la MARH debido al mayor tamaño de la planta en el momento de cosecha, los resultados muestran lo contrario (2,4 *vs.* 11,3%, para MARH y ALFH respectivamente). Ese alto contenido en lignina en la ALFH afectará de forma negativa a su digestibilidad debido a que la lignina es indigestible. Estos resultados en la composición de ambos forrajes concuerdan con los coeficientes de digestibilidad obtenidos para las dos raciones estudiadas (Tabla 2) resultando superiores ($P < 0,05$) en la dieta que incorporó MARH frente a la de ALFH (74,48 *vs.* 69,62 %, respectivamente). Parece que el alto contenido en FND y FAD en la MARH redujo la ingestión debido a dos efectos simultáneos: llenado del rumen, es decir, mayor volumen ocupado, así como tiempo necesario para la rumia superior que en ALFH. Por lo tanto, la MARH parece que estuvo más tiempo en el rumen, con lo cual su ingestión fue menor y su digestibilidad mayor.

Tabla 1. Composición en porcentaje del forraje maralfalfa henificada (*Pennisetum sp*), alfalfa henificada (*Medicago sativa*) y el pienso comercial para cabras en lactación.

Variabes (%)	ALFH ¹	MARH ²	PIENSO
MS ³	86,2	83,6	88,2
Ceniza	8,5	10,1	6,1
M.O. ⁴	91,5	89,9	93,9
PB ⁵	15,1	14,8	16,7
EE ⁶	1,2	1,6	2,2
NDF ⁷	50,0	61,3	18,2
ADF ⁸	31,4	36,6	4,8
ADL ⁹	11,3	2,4	0,0

¹ALFH: Alfalfa Henificada; ²MARH: Maralfalfa Henificada; ³MS: Materia Seca; ⁴M.O: Materia Orgánica; ⁵PB: Proteína Bruta; ⁶EE: Extracto Etéreo; ⁷NDF: Fibra Neutro Detergente; ⁸ADF: Fibra Acido Detergente; ⁹ADL: Lignina Acido Detergente.

Como se muestra en la Tabla 2, no se observaron diferencias en la producción de leche (1,7 kg/día de media), ni en los componentes de la misma como grasa (5% de media), lactosa (4,7% de media) ni extracto seco (14,6% de media). Sin embargo, sí hubo diferencias para el contenido en proteína de la leche, que fue mayor en la dieta con ALFH frente a la MARH (4,4 vs. 4,1%, respectivamente). Con los resultados obtenidos se puede concluir que el forraje maralfalfa henificado presenta una composición similar a la alfalfa, siendo bien aceptada por las cabras Murciano Granadinas en lactación sin afectar de manera relevante a la producción y composición de la leche. No obstante es necesario analizar los resultados correspondientes a la digestibilidad del resto de los nutrientes, los balances energéticos y nitrogenados así como la producción de metano. Una vez obtenidos se podrá evaluar con mayor precisión la utilización de la maralfalfa como forraje en las raciones de caprino lechero.

Tabla 2. Ingestión, coeficiente de digestibilidad y producción y composición de la leche de cabras murciano granadinas alimentadas con raciones con maralfalfa y alfalfa.

Variabes	ALFH ¹	MARH ²	ESM ³	P-value ⁴
Peso Vivo (kg)	44,75	45,8	0,475	ns
Ingestión (kg MS/día)	1,749	1,603	0,033	*
Coeficiente Digestibilidad MS (%)	69,62	74,48	1,102	*
Leche (g/d)	1741,1	1757,4	56,25	ns
Grasa (%)	4,8	5,2	0,192	ns
Proteína (%)	4,4	4,1	0,069	*
Lactosa (%)	4,7	4,7	0,039	ns
Extracto seco	14,6	14,7	0,212	ns

¹ALFH: Alfalfa Henificada; ²MARH: Maralfalfa Henificada; ³ESM: error estándar; ⁴ns: no significativo (P>0,05) y * (P<0,05).

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a D. Luis Puchades de Ludan Renewable Energy España, y a D. Felipe Robledo de Agroplus, su colaboración. Este trabajo ha sido financiado en por el Vicerrectorado de Investigación de la Universitat Politècnica de Valencia en su convocatoria PAID-06-09 (SP20140706).

BIBLIOGRAFÍA

- Clavero, T. y Razz, R. 2009. Valor nutritivo del pasto maralfalfa (*Pennisetum purpureum x Pennisetum glaucum*) en condiciones de defoliación. Revista Facultad Agronomía Luz. 26:78-87.
- Luna, F., Roselló, B. y Hidalgo, J.J. 1984. Forrajes plurianuales para los regadíos mediterráneos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hojas Divulgadoras núm. 2/84. Mapa, 1984.
- Màrquez, F., J. Sánchez., D. Urbano y C. Dàvila. 2007. Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre tres genotipos de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*). 1 . Rendimiento y contenido de proteína. Zootecnia Tropical. 25(4): 253-259.
- Méndez, P. y Álvarez, S. 2013. Maralfalfa: un forraje de reciente introducción en las canarias. AGROPALCA. 22: 3.
- Morales, J. 2009. El sector primario satisfecho con las modificaciones del POSEI. Asociación de Agricultores y Ganaderos de Canarias. 76: 14-17.
- Neiker-Tecnalia. 2014. Estudio de distintas especies forrajeras para reducir costes de producción en las explotaciones ganaderas. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. <http://www.neiker.net/>
- Rubert-Aleman, J., Fernández, C., Garcés, C., Díaz, J.R., Pascual, J.J. y Muelas, R. 2000. Voluntary food intake of unifeed in Murciano-Granadina lactating goat. 7th International Conference on Goats. France. pp.:141
- Sampelayo, M .R. S., Perez, L., Boza, J., Amigo, L., Forage of different physical forms in the diets of lactating granadina goats: nutrient digestibility and milk production and composition, J. Dairy Sci., 1998, 81:492-498.
- Sauvant, D., F. Meschy, and D. R. Mertens. 1999. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogenes des rations. INRA Prod. Anim. 12:49.-60.

ABSTRACT

It has been studied the nutritional characteristics, ingestion and the effects on the milk production and composition of 10 murciano-granadinas goats using the forage called (MARH) tedded maralfalfa (*Pennisetum sp.*) compared to tedded alfalfa (*Medicago sativa*). MARH, which presented high productivity in field, displayed a high content of organic matter 89.9% which was slightly inferior to the value obtained from ALFH (91,5%). The protein content was similar for both forages (14,8% *vs.* 15,1%, in MARH y ALFH, respectively). It is important to note that the content of Fiber Neutral Detergent in MARH was higher (61,3%) compared to ALFH (50,0%). Although, the consumption of MARH was inferior ($P<0.05$) than the ALFH (1.630 g *vs.* 1.749 g, respectively); it was well accepted by the animals. The milk production did not suffer significant variations when they were fed with MARH as forage compared to ALFH (1757 \pm 56 *vs.* 1741 \pm 56 g/day, respectively). The only significant differences ($P<0.05$) were in the protein fraction in the milk, which was lower for the goats feed with MARH compared to ALFH (4.1 *vs.* 4.4%). With these results, it can be concluded that MARH forage presents a similar composition to the ALFH in which MARH was well accepted by the Murciano-Granadinas goats without affecting significantly the production and composition of the milk.

Key words: alfalfa, digestion, maralfalfa, Murciano-Granadina.

EFFECTO DEL TIPO DE PASTO SOBRE EL CONTENIDO EN RETINOL Y TOCOFEROL EN LECHE Y SANGRE DE CABRAS Y EN SANGRE DE CABRITOS DE RAZA PAYOYA

BERZAL, N.¹; PINA, A.M.¹; ÁLVAREZ, R.¹; PANEA, B.²; CÓRDOBA, M.G.³ y ALCALDE, M.J.¹

¹E.T.S. Ingeniería Agronómica. Universidad de Sevilla.

²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón.

³Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura.

RESUMEN

Debido al creciente interés de los consumidores por los productos saludables (Álvarez *et al.*, 2014), se ha estudiado la influencia de dos tipos de alimentación (pasto de monte y pradera) en los contenidos de retinol y tocoferol en el alimento ingerido, la sangre y la leche de cabras de raza Payoya, así como en la sangre de sus cabritos. A pesar de observar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los dos tipos de alimentación en el contenido en retinol, no se encontraron diferencias en las muestras de sangre y leche de las cabras ni en la sangre de los cabritos. El tipo de pasto no afectó al contenido en tocoferol pero sí se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la sangre de las cabras a los 30 días post-parto. El contenido en retinol en sangre y leche en las cabras evolucionó en sentido diferente (mientras el primero aumentaba, en el segundo disminuía) según los días de muestreo por la competencia de depósitos. El efecto del manejo de la alimentación sobre el contenido en retinol y tocoferol es mayor que la propia composición del pasto. Existe una elevada variabilidad individual de los contenidos de retinol y tocoferol en las muestras analizadas, por lo que es necesario seguir investigando sobre estos compuestos.

Palabras clave: retinol, tocoferol, alimentación, caprino.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los consumidores valoran cada vez más la “imagen verde” de los productos, asociándola a productos más saludables y con mayor valor nutricional (Nozière *et al.*, 2006, Álvarez *et al.*, 2014). Es importante, por tanto, estudiar la trazabilidad de algunos compuestos, es decir ver cómo pasan estos compuestos desde el alimento a las madres para posteriormente llegar a la carne y grasa en cabritos y concretamente, micronutrientes saludables tales como las vitaminas A (retinol) y E (tocoferol), ya que los mamíferos no son capaces de sintetizar estas sustancias y deben obtenerlas con la dieta (Álvarez *et al.*, 2014). Este aporte nutricional pretende aumentar el valor añadido de la carne de cabrito y estimular su consumo. Con este trabajo se pretende profundizar en el estudio del metabolismo de retinol y tocoferol en plasma y leche en cabras y en plasma en cabritos en función de la alimentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 48 animales de raza Payoya, divididos en dos lotes según el tipo de pasto consumido (monte y pradera) con 12 cabras y 12 cabritos en cada uno. La pradera y el monte se muestrearon según las especies vegetales presentes y se realizó una ponderación según su frecuencia de aparición en el pasto. Las cabras de monte se alimentaron de pasto compuesto por gramíneas, plantagináceas, geraniáceas, fagáceas, fabáceas y un aporte complementario de 800 gr. al día de pienso compuesto durante la lactación. Las de pradera, pastoreaban en parcelas cultivadas principalmente con avena, algunas compuestas, *malva spp.*, *gallium spp.*, pulpa de remolacha y heno *ad libitum* y un aporte diario de 500 gr. de pienso compuesto durante la lactación. Todos los cabritos se alimentaron con leche materna en el periodo controlado. Se recogieron muestras de leche, sangre y alimento de las madres al parto (día 0) y a los 10 días y 30 días post-parto (el día de sacrificio de los cabritos), así como muestras de sangre de los cabritos al sacrificio. Las muestras se mantuvieron en congelación hasta su análisis. Para las extracciones de retinol y tocoferol se siguieron los protocolos de distintos autores (Lyan *et al.* 2001, Panfili *et al.*, 2004, Hulshof *et al.*, 2006 y Kean *et al.*, 2007) con algunas modificaciones. En todas ellas se extrajo la fase orgánica con hexano, seguido de una saponificación, lavado y evaporación con nitrógeno y finalmente el residuo seco se diluyó en acetato de etilo. El análisis de las muestras con HPLC se realizó en un sistema Agilent 1100 (Agilent, Palo Alto, CA), equipado con un detector de fotodiodos, una bomba cuaternaria, un módulo de control de temperatura ajustado a 20°C, un inyector automático y una

columna YMC C30 (5 mm, 250 mm 4.6 mm; YMC, Wilmington, NC). La fase móvil estaba compuesta por metanol y metil-tert-butil-éter (MTBE). Los cromatogramas se monitorizaron a 325 nm para el retinol y a 280 nm para el tocoferol. El programa usado para realizar el análisis estadístico fue el SPSS (v. 22) con el que se hizo un análisis de varianza (ANOVA), y un test de Duncan de diferencias entre medias ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados de las muestras de alimento que tomaron las cabras. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de retinol o tocoferol entre las distintas fechas de muestreo en ninguno de los lotes, posiblemente debido a la alta variabilidad en los datos. En el caso del retinol, existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tipos de pasto, siendo mayor el contenido en retinol en el caso de la pradera cultivada que en el lote de monte, probablemente porque la masa forrajera en estadios jóvenes de crecimiento fue mayor en el primer caso.

Tabla 1. Contenido en retinol y tocoferol ($\mu\text{g/g MS}$) en el pasto en función del tipo de pasto y tiempo de muestreo: valores medios, error estándar y significación del análisis de varianza (ANOVA).

		Monte	Pradera	Efecto tipo pasto
Retinol	Día 0	2,23±1,35	12,22±4,94	*
	10 Días	2,23±1,35	11,68±3,07	
	30 Días	2,28±1,42	4,42±1,75	
	Efecto tiempo de muestreo	NS	NS	
α -Tocoferol	Día 0	3,49±1,96	ND	NS
	10 Días	3,49±1,96	12,06±2,62	
	30 Días	8,33±7,40	2,44±1,20	
	Efecto tiempo de muestreo	NS	NS	

*: $p < 0,05$; NS: no significativo

Las concentraciones de retinol y tocoferol obtenidas en las muestras de sangre y leche de las cabras y la sangre de los cabritos se pueden ver en la Tabla 2. En el caso del retinol en leche, se encontraron diferencias entre tiempos de muestreo para los dos tipos de pasto ($p < 0,05$). Respecto al retinol en sangre, no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tiempos de muestreo con el grupo de pradera, pero sí ($p < 0,001$) en el grupo de monte entre el día 0 y los 10 días, así como entre el día 0 y los 30 días. No se encontraron diferencias significativas entre tipos de alimentación para el contenido en retinol, pero sí para el contenido en

tocoferol ($p < 0,05$). En la leche, independientemente del tipo de pasto, se observó un descenso continuado del contenido en retinol desde el día 0 hasta el día 30, mientras que en sangre aumentó a lo largo del tiempo en ambos grupos. Esto puede deberse a que tras el parto, las cabras permanecen los primeros días estabuladas con los cabritos, la ingesta de carotenos disminuye al consumir menos pasto, y ello conlleva una disminución del contenido en retinol en leche. A partir de los 10 días las cabras empiezan a salir más al pasto y los niveles de retinol en sangre empiezan a recuperarse, aunque no con tiempo suficiente como para que se refleje en un aumento de retinol en la leche desde el día 10 hasta el día 30. El efecto del tipo de pasto sobre el contenido en tocoferol sólo fue significativo a los 30 días post-parto. Por último, en la sangre de los cabritos no se encontraron diferencias significativas en función de la alimentación de las madres.

Tabla 2. Valores medios, desviación típica y análisis de varianza de retinol y tocoferol ($\mu\text{g/gMS}$) para las muestras de sangre y leche de cabras y sangre de cabritos de los dos lotes de alimentación (Monte y Pradera) en los diferentes tiempos de muestreo.

	Variables	Cabras			Cabritos		
		Retinol en leche	Retinol en sangre	Sig. Depósitos	α -Tocoferol en sangre	Retinol en sangre	α -Tocoferol en sangre
Monte	Día 0	1,64 \pm 0,37 ^b	0,51 \pm 0,11 ^a	**	ND		
	10 Días	1,17 \pm 0,07 ^{ab}	1,96 \pm 0,31 ^b	NS	ND	1,00 \pm 0,20	1,87 \pm 0,39
	30 Días	0,77 \pm 0,10 ^a	2,36 \pm 0,32 ^b	***	12,85 \pm 2,91 ^b		
	Significación tiempo	*	***				
Pradera cultivada	Día 0	1,71 \pm 0,51 ^b	1,91 \pm 0,39	NS	ND		
	10 Días	0,45 \pm 0,10 ^a	1,97 \pm 0,54	NS	ND	0,90 \pm 0,12	2,38 \pm 0,59
	30 Días	0,80 \pm 0,11 ^a	2,31 \pm 0,12	***	8,38 \pm 1,09 ^a		
	Significación tiempo	*	NS				
Sig. tipo alimentación		NS	NS		*	NS	NS

Diferentes superíndices en la misma columna implican diferencias significativas *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$; ND: no detectado; NS: no significativo.

CONCLUSIONES

No existen diferencias importantes entre la alimentación de monte y de pradera cultivada sobre los contenidos de retinol y tocoferol en la leche o en la sangre de las cabras. El contenido en retinol en la leche de las cabras son bajas, debido probablemente al manejo de los animales. En las cabras y respecto a los contenidos en retinol en sangre

y leche, existe una clara competencia entre depósitos en los diferentes días de muestreo, cuando en sangre aumenta, en leche disminuye. Existe una elevada variabilidad individual de los contenidos de retinol y tocoferol en las muestras empleadas, lo que impide encontrar diferencias significativas, por lo que es necesario seguir investigando sobre estos compuestos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al INIA la concesión del proyecto RTA2012-0023-C03-00 y a la Asociación de la raza Payoya la ayuda prestada en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Álvarez, R., Meléndez Martínez, A.J., Vicario, I.M., Alcalde M.J. 2014. Effect of pasture and concentrate diets on concentrations of carotenoids, vitamin a and vitamin e in plasma and adipose tissue of lambs. *Journal of Food Composition And Analysis* 36, 59–65.
- Hulshof, P.j.m., Van Roekel-Jansen, T., Van De Bovenkamp, P., West, C.E. 2006. Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in the netherlands. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 67–75.
- Kean, E.G., Ejeta, G., Hamaker, B.R., Ferruzzi, M.G. 2007. Characterization of carotenoid pigments in mature and developing kernels of selected yellow-endosperm sorghum varieties. *Journal of Agricultural And Food Chemistry* 55, 2619–2626.
- Lyan, B., Azaïs-Braesco, V., Cardinault, N., Tyssandier, V., Borel, P., Alexandre-Gouabau, M.C., Grolier, P. 2001. Simple method for clinical determination of 13 carotenoids in human plasma using an isocratic high-performance liquid chromatographic method. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences and Applications* 751, 297–303.
- Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P., Doreau, M. 2006. Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131, 418–450.
- Panfili, G., Fratianni, A., Irano, M. 2004. Improved normal-phase high- performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 6373–6377.

EFFECT OF PASTURE COMPOSITION ON RETINOL AND TOCOPHEROL CONTENTS ON DAMS MILK AND BLOOD AND ON KIDS' BLOOD OF PAYOYA GOAT BREED

SUMMARY

Due to the increasing interest in healthy products (Alvarez *et al.*, 2014), we studied the influence of two types of feeds (mountain pasture and meadow) in the presence of retinol and tocopherol in goats and kids of Payoya breed. Significant differences were observed ($p > 0.05$) between types of feeds for pasture composition in the retinol content. Nevertheless there were no differences in blood and milk samples goats and kids. Depending on the feeding, the content of tocopherol was no different in the composition of the pasture but significant differences ($p < 0.05$) were found in blood of goats at 30 days postpartum but not for the other parameters. The evolution of the content of retinol in blood and milk in goats evolved in different directions depending on the sampling day by deposits competition (increasing in blood while decreasing in milk). It is greater the effect of feeding management on retinol and tocopherol content than the composition of the grass. A high individual variability of the contents of retinol and tocopherol exists in the samples measured, so further researchs are needed on these compounds.

Key words: retinol, tocopherol, feed, goat

EFFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE PULPA DE NARANJA EN LA DIETA DE CABRAS LECHERAS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

RODRÍGUEZ, M.; LÓPEZ, M.C.; DOMÍNGUEZ, M.J.; PÉREZ-BAENA, I.; FERNÁNDEZ, N. y PERIS, C.

Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia.

RESUMEN

En este trabajo se ha evaluado la inclusión de pulpa de naranja en la dieta de cabras lecheras sobre la producción y composición de la leche. Se utilizaron 24 cabras de raza Murciano-Granadina a mitad de lactación, que fueron distribuidas en dos grupos homogéneos según sus características productivas durante un periodo pre-experimental de 7 días. Se formularon dos dietas, una de ellas estaba compuesta por heno de alfalfa, paja de cebada y un pienso comercial, en la otra dieta se incluyeron 2,5 kg de pulpa de naranja, y se ajustó el aporte de concentrados para que ambas dietas fuesen isoenergéticas e isoproteicas. Se realizó un diseño cruzado con 2 periodos de 21 días cada uno. Cada periodo constó de una etapa de adaptación de los animales a las dietas de 10 días y, a continuación, se realizaron controles de producción y composición de leche. Tras tomar muestras de leche de tanque, se comprobó que la incorporación de pulpa de naranja en la dieta aumentó significativamente el contenido de grasa y extracto seco de la leche en 0,47 puntos; sin embargo, la producción de leche y sus contenidos en proteína y lactosa no se vieron afectados.

Palabras clave: cabras lecheras, pulpa de naranja, producción y composición de la leche.

INTRODUCCIÓN

La producción de cítricos supone el 31% de la superficie total agraria en la Comunidad Valenciana y representa cerca del 65% de la producción española (IVACE, 2014). Gran parte de esta producción se destina a la elaboración de zumos, generando como residuo la pulpa cítrica (PC), que ha de ser eliminada por la industria para evitar problemas medioambientales. Una solución al problema es su utilización en la alimentación del ganado, contribuyendo así al reciclado de este subproducto, que hace más sostenible la actividad ganadera y además reduce los costes de producción.

Según FEDNA (2010) la PC es un subproducto con un nivel intermedio de FND (20-25%), altamente digestible por su elevado contenido en hidratos de carbono solubles (20%) y pectinas (30%), aunque tiene un bajo contenido en proteína (7-9%). Por sus características es un subproducto adecuado para la sustitución de los cereales de la dieta.

Dada la abundancia de pulpa de naranja en la Comunidad Valenciana y el interés de su utilización en las dietas del ganado para abaratar el coste de la alimentación, el objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de su incorporación en la dieta de cabras lactantes sobre la producción y composición (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la granja experimental de pequeños rumiantes de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV). Se utilizaron 24 cabras de raza Murciano-Granadina que se encontraban en su cuarto mes de lactación. Se formularon dos dietas, en una de ellas (dieta Control) se utilizaron materias primas habituales en la alimentación de cabras lecheras, compuesta por heno de alfalfa, paja de cebada y un pienso comercial. En la otra (dieta Pulpa) se incluyeron 2,5 kg de pulpa de naranja y se ajustó el aporte de concentrados para que las dietas fuesen isoenergéticas e isoproteicas. Ambas dietas fueron ofrecidas en una cantidad diaria de 2,7 kg MS/cabra.

En una primera etapa pre-experimental (7 días), todos los animales recibieron la misma alimentación (dieta Control) y se controló la producción y composición de la leche individualmente, así como el recuento de células somáticas (RCS). Esta información sirvió para distribuir a los animales en dos grupos homogéneos según sus características de producción, composición de leche y estado sanitario de la ubre (Tabla 1). La etapa experimental se dividió en 2 periodos de 21 días cada uno. En el primer periodo las dietas formuladas se

asignaron aleatoriamente a los dos grupos de animales y en el segundo periodo se intercambiaron las dietas entre los grupos.

Tabla 1. Producción (ml/d), composición (%MS) y recuento de células somáticas (RCS; log10 células/ml) de la leche de los dos grupos de cabras en el período pre-experimental.

	Grupo 1		Grupo 2	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Producción	1861	390	1893	267
Grasa	5,27	0,70	5,24	0,69
Proteína	3,61	0,32	3,71	0,37
Lactosa	4,68	0,18	4,59	0,36
Extracto seco	14,42	0,89	14,34	1,21
RCS	5,92	0,60	5,53	0,74

Durante los primeros 10 días de cada periodo las cabras se adaptaron a sus nuevas dietas. Tras comprobar la buena aceptación de las dietas por los animales, se controló la producción y composición de la leche individual en los días 10 y 21 de cada periodo, así como la composición de la leche de tanque de cada grupo. Para ello se tomaron muestras de leche de tanque (por duplicado) en días alternos, entre el día 10 y el 20 de cada periodo (ambos incluidos). La producción individual fue evaluada con medidores volumétricos. La composición química de la leche se analizó con un analizador de infrarrojos (MilkoScan FT120 Foss Electric) y el RCS se llevó a cabo mediante el equipo Fossomatic 5000 (Foss).

La producción de leche, su composición (extracto seco, grasa, proteína, lactosa) y el RCS (transformado en logaritmo) fueron analizados con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (2012). El modelo utilizado para analizar las muestras de leche individuales incluyó el efecto aleatorio del individuo y los efectos fijos de la dieta, el periodo y el día dentro de periodo. Para analizar las muestras de leche de tanque se utilizó el mismo modelo, pero sustituyendo el individuo por el grupo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la dieta sobre la producción y los componentes de la leche se muestra en la Tabla 2. Se observó que la incorporación de pulpa de naranja en la dieta aumentó significativamente el contenido de grasa en la leche, respecto a la dieta Control, con un incremento del 4,6% en el análisis realizado sobre muestras individuales ($P < 0,05$) y un 10,1% en el análisis realizado sobre la leche de tanque ($P < 0,001$). En este segundo

tipo de análisis también aumentó el extracto seco de la leche ($P < 0,001$) un 3,5%, como consecuencia del incremento del nivel de grasa. La producción de leche, su contenido en proteína y lactosa, así como el RCS, no fueron afectados significativamente ($P > 0,05$) por la incorporación de pulpa de naranja en la dieta.

Entre los diferentes estudios encontrados en la bibliografía sobre el efecto de la PC en la producción y composición de la leche de los rumiantes, cabe señalar que los trabajos realizados en cabras lecheras son muy escasos. Los datos bibliográficos para leche de ovejas y vacas no presentan en ningún caso efectos negativos importantes de la PC sobre los parámetros productivos lecheros.

Tabla 2. Producción (ml/d), composición (%MS) y recuento de células somáticas (RCS; log₁₀ células/ml) de la leche de cabras Murciano-Granadinas en función de la dieta.

		Dieta Control	Dieta Pulpa	± ES	Significación estadística
Individual	Producción	1857	1895	2,24	NS
	Grasa	4,82	5,04	0,07	*
	Proteína	3,60	3,57	0,03	NS
	Lactosa	4,48	4,50	0,02	NS
	Extracto seco	13,79	13,88	0,09	NS
	RCS	5,70	5,60	0,05	NS
Grupo	Grasa	4,66	5,13	0,05	***
	Proteína	3,59	3,61	0,01	NS
	Lactosa	4,50	4,48	0,01	NS
	Extracto seco	13,59	14,06	0,05	***
	RCS	6,12	6,10	0,03	NS

ES: error estándar; NS: no significativo; *: $P < 0,05$; ***: $P < 0,001$.

Los resultados del presente estudio están en concordancia con Belibasakis y Tsigoyianni (1996), que obtuvieron un aumento del 4% en la grasa de la leche de vacas lecheras alimentadas con un 20% de PC deshidratada. También en ganado ovino, Volanis *et al.* (2004) y Volanis *et al.* (2006) observaron este efecto positivo sobre la grasa de la leche; puesto que ésta se incrementó en un 16 y 17% en la leche de ovejas alimentadas con 3 kg de ensilado de naranjas o de PC, respectivamente, en comparación con los grupos control alimentados con dietas convencionales. Sin embargo Piquer *et al.* (2011) comprobaron en ganado ovino un descenso del 6,3 y 12,5% en el contenido en grasa de la leche al incorporar cítricos enteros en proporciones del 20 y 30% MS de la ración, respectivamente, en sustitución de pulpa de remolacha y cebada.

López *et al.* (2014) estudiaron el efecto de la inclusión de PC en la dieta de cabras lecheras a mitad de lactación. Estos autores compararon una dieta con un 60% de maíz frente a otras dos dietas en las que se sustituyó el cereal por PC deshidratada o cascarilla de soja. La dieta de PC mostró valores de grasa en leche (5,9%) intermedios entre la dieta de maíz (5,0%) y la dieta de cascarilla (6,6%), presentando la dieta con PC un ratio acético:propiónico (5,2) más similar a la dieta forrajera (5,2) que a la dieta de cereal (4,1). Este mismo efecto en el perfil de ácidos grasos volátiles fue observado por Piquer *et al.* (2009), ya que al introducir cantidades crecientes de cítricos de destrío en sustitución de cereales en la dieta de ovejas se incrementó el ratio acético:propiónico.

El incremento observado en la grasa láctea de las cabras cuando consumieron la dieta con pulpa de naranja, respecto a la dieta de cereal, podría ser debido a que la fibra de fácil digestión que presenta la PC, con elevado contenido en pectinas, originaría en el rumen una fermentación con mayor producción de ácido acético y ratio acético:propiónico, que como indican Bauman y Davis (1974) promueve la síntesis de grasa de la leche.

CONCLUSIONES

La incorporación de pulpa de naranja en la dieta en sustitución de cereales (un 10% de la MS), aumentó el contenido en grasa y extracto seco de la leche de tanque, pero no afectó a la producción ni a los contenidos en proteína y lactosa, ni al RCS. Así, la pulpa de naranja es un valioso subproducto que puede reemplazar parcialmente los concentrados de la dieta en cabras lecheras sin efecto perjudicial en la producción y con un efecto beneficioso en el contenido en grasa y extracto seco de la leche.

BIBLIOGRAFÍA

- Belibasakis, N.G., Tsirgogianni, D. 1996. Effects of dried pulp on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 60: 87-92.
- FEDNA. 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España.
- Bauman, D.E., Davis, C.I. 1974. Biosynthesis of milk fat. In *Lactation: a comprehensive treatise*. 2, 31-75. Academic Press Inc. New York.
- IVACE. 2014. Cítricos de la Comunidad Valenciana. Instituto valenciano de competitividad empresarial. Valencia, España.

- López, M.C.; Estellés, F.; Moya, V.J., Fernández, C. 2014. Use of dry citrus pulp or soybean hulls as a replacement for corn grain in energy and nitrogen partitioning, methane emissions, and milk performance in lactating Murciano-Granadina goats. *J. Dairy Sci.*, 97: 7821-7832.
- Piquer, O.; Rodríguez, M.; Blas, E.; Cerisuelo, A.; Fernández, C., Pascual, J.J. 2011. Whole citrus fruits in total mixed rations for Mediterranean milking ewes. Milk production and composition. *Options méditerranéennes.*, 99: 251-258.
- Piquer, O.; Ródenas, L.; Casado, C.; Blas, E., Pascual, J.J. 2009. Whole citrus fruits as an alternative to wheat grain or citrus pulp in sheep diet: Effect on the evolution of ruminal parameters. *Small Rumin. Res.*, 83: 14-21.
- SAS. 2012. User's guide, version 9.3. Statistical Analysis System Institute Inc. Cary, N.C., USA.
- Volanis, M.; Zoiopoulos, P., Tzerakis, K. 2004. Effects of feeding sliced oranges to lactating dairy sheep. *Small Rumin. Res.*, 53: 15-21.
- Volanis, M.; Zoiopoulos, P.; Panagou, E., Tzerakis, K. 2006. Utilization of an ensiled citrus pulp mixture in the feeding of lactating dairy ewes. *Small Rumin. Res.*, 64: 190-195.

EFFECT OF THE INCORPORATION OF ORANGE PULP IN THE DIET OF DAIRY GOATS ON PRODUCTION AND COMPOSITION OF MILK

SUMMARY

In this work was evaluated the inclusion of orange pulp in the diet of dairy goats on milk production and composition. Twenty-four Murciano-Granadina goats at mid-lactation were used. The goats were distributed into two homogeneous groups according to their productive characteristics for a pre-experimental period of 7 days. Two diets were formulated, one of which was composed of alfalfa hay, barley straw and commercial feed, and the other diet included 2.5 kg of orange pulp. The supply of concentrates was adjusted for both diets were isoenergetic and isonitrogenous. A crossover design with 2 periods of 21 days each was conducted. Each period consisted of an adaptation phase of animals to diets for 10 days and then controls of milk production and composition were carried out. After taking samples of tank milk, it found that the addition of orange pulp in the diet increased significantly milk fat and total solids in 0.47 points; however, the milk production and its protein and lactose content were unaffected.

Key words: dairy goats; orange pulp; milk production and composition.



SEOC 2015

CALIDAD DE CARNE



CÓZAR, A.^{1,2}; LINARES, M.B.³; GARRIDO, M.D.³ y VERGARA, H.^{1,2,*}

¹Universidad de Castilla-La Mancha. Dpto. de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, 02071 Albacete, España.

²Instituto de Desarrollo Regional. Sección de Calidad Alimentaria, Albacete.

³Universidad de Murcia. Dpto. de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, 30100, Espinardo, España.

*Herminia.Vergara@uclm.es

RESUMEN

Este trabajo evaluó el efecto de la adición de especias molidas (romero o tomillo) y el periodo de almacenamiento (0, 3 y 6 días post elaboración), sobre las características físico- químicas (pH, L*, a*, b*, pérdida por cocción, reducción de diámetro y fuerza al corte) de hamburguesas de cordero. El periodo de almacenamiento aumentó los valores de pH (en las hamburguesas especiadas) y de la coordenada de color b*, pero causó una disminución de los valores de a*, las pérdidas por cocción y la reducción de diámetro. En general, la adición de especias molidas no afectó a los parámetros evaluados.

Palabras clave: Calidad físico-química, cordero, especias, hamburguesas.

INTRODUCCIÓN

La difícil situación que atraviesa el sector ovino de carne se debe a factores de diversa índole, entre los que cabe destacar el aumento de los costes de producción y el bajo consumo de este alimento. La innovación y desarrollo de derivados cárnicos procedentes de carne de cordero (tales como hamburguesas) podría ser una alternativa adecuada para acercar esta carne a nuevos consumidores y mercados. El desarrollo

de un nuevo producto implica conocer sus propiedades físico-químicas, las cuales determinan la calidad del mismo y ejercen un importante papel en el momento de la compra (color) y su consumo (cambios dimensionales por el cocinado y textura). Por otro lado, los consumidores demandan cada vez más productos naturales, sin aditivos químicos en su composición. Una alternativa a dichas sustancias sintéticas es la adición de especias naturales en la formulación de nuevos derivados cárnicos. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de especias molidas (romero o tomillo) o no (control) durante un periodo de 6 días de almacenamiento sobre la calidad físico-química [pH, color, características al cocinado (pérdidas por cocción, reducción de diámetro y textura)] de las hamburguesas de cordero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las hamburguesas se elaboraron con piernas de cordero recental de raza Manchega, las piezas se obtuvieron tras un periodo de oreo de las canales de 24 h a 4°C. Una vez deshuesadas las piezas y picada la carne se adicionó la sal y las especias correspondientes, obteniendo tres tipos diferentes: Control (1% sal), Romero (1% sal + 0,1% romero molido) y Tomillo (1% sal + 0,1% tomillo molido). Tras amasar manualmente cada lote, se formaron hamburguesas de 100 g y 10 cm de diámetro, las cuales fueron almacenadas a 2±1°C de forma aerobia convencional. Las determinaciones analíticas fueron realizadas por duplicado los días 0,3 y 6 post-almacenamiento [n=8 para cada lote (control, romero o tomillo), tiempo de análisis y tipo de análisis hamburguesas crudas o cocinadas]. El pH se valoró en una mezcla homogeneizada de 3 g de muestra cruda con 27 ml de agua destilada con un pH-metro Crison GLP-22. Las coordenadas de color (L*, a* y b*) se midieron en la superficie de las hamburguesas crudas usando un colorímetro Minolta Chroma Meter CR400. Para la determinación de las características al cocinado, las muestras se pesaron y se midió su diámetro (utilizando un calibre digital, 4 medidas por muestra) antes y después del cocinado (realizado en una plancha convencional hasta alcanzar una temperatura interna en las mismas de 72°C), y se valoraron:

- % Pérdidas por Cocción (PC)= $100 - [100 \times (\text{Peso muestra cocinada} / \text{Peso muestra cruda})]$
- % Reducción de Diámetro (RD)= $100 \times [(\text{Diámetro en crudo} - \text{Diámetro en cocinado}) / \text{Diámetro en crudo}]$
- Fuerza al Corte (FC), analizada con un texturómetro modelo TA.XT2 equipado con un dispositivo Warner-Bratzler. Se utilizaron las mismas

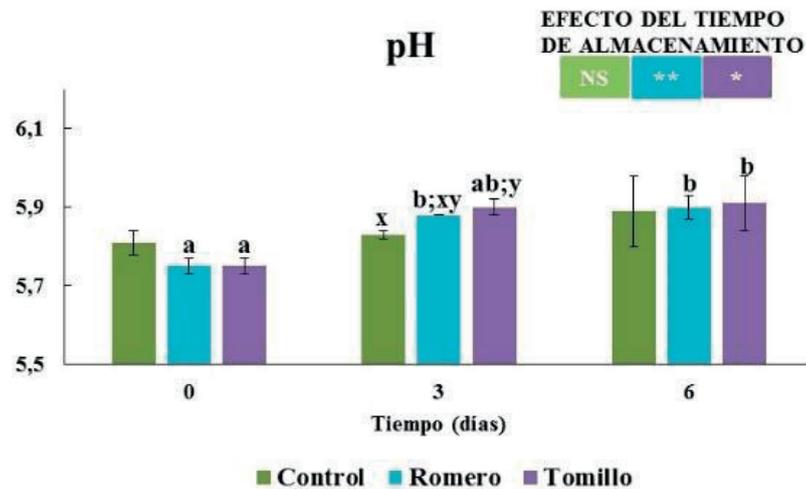
muestras cocinadas troceadas en porciones de 2,5 cm x 1cm. Los resultados se expresaron en N/cm².

El efecto de la especia y del periodo de almacenamiento sobre las características físico-químicas se estudió realizando un análisis de varianza (ANOVA) con el paquete estadístico SPSS v19.0 (IBM Corp., 2010). Se realizó un test de Tukey, con un nivel de significación de $P < 0,05$ para determinar las diferencias entre pares de grupos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El periodo de almacenamiento, causó un aumento significativo del pH en las hamburguesas especiadas con romero ($P < 0,01$) y tomillo ($P < 0,05$) [Figura 1]. Este incremento en el pH está asociado con un aumento en la flora microbiana en condiciones de almacenamiento aerobio (Drosinos y Board, 1995), a la acumulación de metabolitos bacterianos y al catabolismo proteico (Karabagias *et al.*, 2011). A los 6 días post-elaboración los valores de pH fueron menores que el nivel considerado como crítico (pH = 6,4) para el consumidor de acuerdo con Prost *et al.* (1985). La adición de la especia causó una ligera diferencia de pH a los 3 días de almacenamiento, mostrando las hamburguesas especiadas con tomillo valores ligeramente superiores. L^* no varió con el periodo de almacenamiento estudiado (Tabla 2) y se mantuvo por encima de los valores considerados según Khliji *et al.* (2010) como aceptables (34-35) por el consumidor en todo el periodo de almacenamiento analizado. Los valores de la coordenada a^* disminuyeron de forma significativa durante el periodo de tiempo estudiado. Estos cambios son asociados a la formación de metamioglobina, produciendo el cambio de color de rojo a marrón (Cheng *et al.*, 2007). Sin embargo, la coordenada b^* aumentó con el tiempo de almacenamiento; esta tendencia también fue observada en paté de cordero (Amaral *et al.*, 2015). Nuestro estudio mostró que la adición de especia en polvo no preservó el color del producto pero otros autores observaron que la adición de extractos naturales (romero o *Toona sinensis* Roem “cedro de china”) mantuvieron el color en salchichas de pollo durante 14 días a 4°C (Liu *et al.* 2009). Por ello, podríamos concluir que el efecto de las especias en la estabilidad del color podría depender del tipo de formato de éstas y de la matriz en las que son añadidas. La Tabla 3 muestra el efecto de la especia y del tiempo de almacenamiento en las características al cocinado [pérdidas por cocción (PC), reducción del diámetro (RD) y fuerza al corte (FC)]. El cocinado de las hamburguesas está asociado con la aceptación del producto debido a la exudación y los cambios dimensionales producidos durante la cocción del mismo (Sánchez-Zapata *et al.*, 2010). En nuestro trabajo, tanto PC como RD disminuyeron significativamente con el

tiempo de almacenamiento en todas las hamburguesas, mejorando así las características del cocinado. Por el contrario, la FC no mostró diferencias estadísticas debidas al paso del tiempo. No se observaron diferencias significativas debidas a la adición o no de especias en ninguno de los parámetros analizados.



*a, b: Letras distintas indican diferencias significativas debidas al tiempo de almacenamiento en el mismo tipo de hamburguesa; x, y: Letras distintas indican diferencias significativas debidas a las especias añadidas dentro del mismo tiempo de almacenamiento; NS: No significativo, *, **: $P < 0,05$, $P < 0,01$ respectivamente.*

Figura 1. Efecto del tipo de especia añadida y tiempo de almacenamiento en el pH de hamburguesas de cordero Manchego.

Tabla 2. Efecto del tipo de especia añadida y tiempo de almacenamiento en las coordenadas de color (L^* , a^* y b^*) (Media±ES) en hamburguesas de cordero Manchego.

Coordenadas de Color	Tiempo (días)	Control	Romero	Tomillo	ANOVA
L^*	0	45,53±1,18	46,22±0,82	46,22±0,99	NS
	3	45,53±1,17	44,90±0,82	43,82±0,90	NS
	6	46,95±0,88	46,56±1,19	45,31±1,16	NS
	ANOVA	NS	NS	NS	
a^*	0	15,35±0,42 ^c	14,40±0,64 ^b	14,43±0,35 ^b	NS
	3	11,36±0,64 ^b	11,06±0,47 ^a	11,79±0,49 ^a	NS
	6	9,04±0,56 ^a	8,97±0,74 ^a	9,76±0,86 ^a	NS
	ANOVA	***	***	***	
b^*	0	6,89±0,51 ^a	7,44±0,41 ^a	7,46±0,29 ^a	NS
	3	9,33±0,20 ^b	9,45±0,33 ^b	9,46±0,19 ^b	NS
	6	9,49±0,24 ^b	9,05±0,27 ^b	9,18±0,29 ^b	NS
	ANOVA	***	***	***	

*a, b, c: Letras distintas indican diferencias significativas debidas al tiempo de almacenamiento en el mismo tipo de hamburguesa; NS: No significativo, ***: $P < 0,001$.*

Tabla 3. Efecto del tipo de especia añadida y el tiempo de almacenamiento en las características al cocinado (PC, RD y FC) (Media±ES) en hamburguesas de cordero Manchego.

Parámetros	Tiempo (días)	Control	Romero	Tomillo	ANOVA
PC (%)	0	27,72±1,5 ^b	28,00±1,65 ^b	27,36±1,37 ^b	NS
	3	22,15±1,49 ^a	22,38±1,43 ^a	22,28±1,31 ^a	NS
	6	20,38±1,12 ^a	21,33±0,90 ^a	20,13±1,21 ^a	NS
	ANOVA	**	**	**	
RD (%)	0	19,66±0,77 ^b	19,16±0,83 ^b	20,43±1,37 ^b	NS
	3	18,30±0,92 ^b	17,48±0,41 ^{ab}	17,94±0,57 ^{ab}	NS
	6	14,56±1,03 ^a	15,71±0,37 ^a	17,01±0,41 ^a	NS
	ANOVA	**	**	*	
FC (N/cm ²)	0	17,12±0,98	16,73±0,40	16,61±1,10	NS
	3	15,07±1,45	15,07±1,52	15,03±0,43	NS
	6	13,47±0,52	14,73±0,48	14,92±0,63	NS
	ANOVA	NS	NS	NS	

^{a, b, c}: Letras distintas indican diferencias significativas debidas al tiempo de almacenamiento en el mismo tipo de hamburguesa; NS: No significativo, *, **: P < 0,05, P < 0,01 respectivamente.

CONCLUSIONES

El periodo de tiempo afectó a algunos de los parámetros físico-químicos de las hamburguesas de cordero: (1) incrementó el pH, posiblemente debido a un aumento de la carga microbiana; (2) ocasionó cambios en las coordenadas a* y b*, asociados con la oxidación de los pigmentos de la carne. (3) En las condiciones de este experimento, las características al cocinado (pérdidas por cocinado y reducción del diámetro) mejoraron con el periodo de almacenamiento. Las especias usadas, romero y tomillo, a esta concentración (0,1 %) y en esta forma (molidas), no preservaron la estabilidad del color ni afectaron al resto de características físico-químicas evaluadas en las hamburguesas de cordero.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras quieren dar las gracias al “Rincón de Ortega” por su ayuda. Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Proyecto PPII-2014-002-P, y beca pre-doctoral de A. Cózar).

REFERENCIAS

- Amaral, D.S., Silva, F.P., Bezerra, T.A., Arcanjo, N.O., Guerra, I.D., Dalmás, P.S., & Madruga, M.S. (2015). Effect of storage time and packaging on the quality of lamb pâté prepared with 'variety meat'. *Food Packaging and Shelf Life*, 3, 39-46.
- Cheng, J.H., Wang, S.T., & Ockerman, H.W. (2007). Lipid oxidation and color change of salted pork patties. *Meat Science*, 75, 71-77.
- Drosinos, E.H., & Board, R.G. (1995). Microbial and physicochemical attributes of miced lamb: sources of contamination with pseudomonads. *Food Microbiology*, 12, 189-197.
- IBM Corp. (2010). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Guide user. Armonk, New York, USA: IBM Corp.
- Karabagias, I., Badeka, A., & Kontominas, M.G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 88, 119-116.
- Khliji, S., Van De Ven, R., Lamb, T.A., Lanza, M., & Hopkins, D.L. (2010). Relationship between consumer ranking of lamb colour and objective measures of colour. *Meat Science*, 85, 224-229.
- Liu, D.G., Tsau, R.T., Lin, Y.C., Jan, S.S., & Tan, F.J. (2009). Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 117(1), 106-113.
- Prost, E., Pelcynska, E., & Libelt, K. (1985). Influence of age, sex and kind of muscle on chemical composition and nutritive value of pork. *Medycyna Weterynaryjna*, 41(4), 207-210.
- Sánchez-Zapata, E., Muñoz, C.M., Fuentes, E., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C. & Pérez-Alvarez, J.A. (2010). Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. *Meat Science*, 85, 70-76.

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SPICED LAMB BURGERS WITH ROSMARY OR THYME

SUMMARY

This work evaluated the effect of adding two powdered spices (rosemary or thyme) and the storage period (0, 3 and 6 days post-manufactured), on the physicochemical characteristics [pH, colour coordinates (L^* , a^* and b^*), cooking loss, diameter reduction and shear force] of lamb burgers. The storage period increased the pH values (spiced burgers) and the b^* coordinate, while the a^* values, cooking loss and diameter reduction decreased with time. In general, the addition of powdered spices did not affect the parameters analyzed.

Key words: Lamb burgers, spices, physicochemical-quality.

CÓZAR, A.^{1,2}; LINARES, M.B.³; GARRIDO, M.D.³ Y VERGARA, H.^{1,2,*}

¹Universidad de Castilla-La Mancha. Dpto. de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, 02071 Albacete, España.

²Instituto de Desarrollo Regional. Sección de Calidad Alimentaria, Albacete.

³Universidad de Murcia. Dpto. de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, 30100, Espinardo, España.

*Herminia.Vergara@uclm.es

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del uso de especias molidas (romero o tomillo) en la elaboración de hamburguesas de cordero de raza Manchega sobre la calidad higiénico-sanitaria (Aerobios mesófilos totales, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. y oxidación lipídica) durante 6 días de almacenamiento en condiciones aerobias. Los microorganismos evaluados no sobrepasaron los límites recomendados (7 logUFC/g) durante el tiempo de estudio. El tiempo de almacenamiento afectó significativamente a los valores de oxidación lipídica ($P < 0,001$) en las muestras control. Por el contrario, en las hamburguesas especiadas, este parámetro se mantuvo estable durante el periodo de estudio.

Palabras clave: Cordero, hamburguesas, especias, vida útil.

INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria y la calidad final son los elementos más importantes para el consumidor a la hora de comprar un producto

(Bernabéu y Tendero, 2005). Los productos elaborados con carne picada suelen tener un deterioro mucho más acelerado que las piezas cárnicas o filetes (Jay, 2000), lo cual es debido a la mayor manipulación a la que se ven sometidos, que conlleva una carga microbiológica más elevada. A ello hay que añadir una mayor superficie de contacto con el oxígeno y la acción prooxidante de la sal utilizada en su formulación, provocando una rápida oxidación lipídica. Para controlar el deterioro de estos productos, la incorporación de sustancias naturales responde además a la creciente demanda de los consumidores de alimentos seguros, naturales y libres de aditivos. Entre ellos hay una variada fuente de hierbas y especias que contienen compuestos con marcadas propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Las hierbas de la familia de *Labiatae* (tales como romero y tomillo) han sido algunas de las más estudiadas por dichas propiedades. Son muchos los trabajos que estudian en diferentes matrices cárnicas el efecto de estas sustancias naturales como agentes antimicrobianos y antioxidantes (Falowo *et al.*, 2014). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica y la oxidación lipídica de hamburguesas de cordero de raza Manchega especiadas o no con romero o tomillo durante 6 días tras su elaboración.

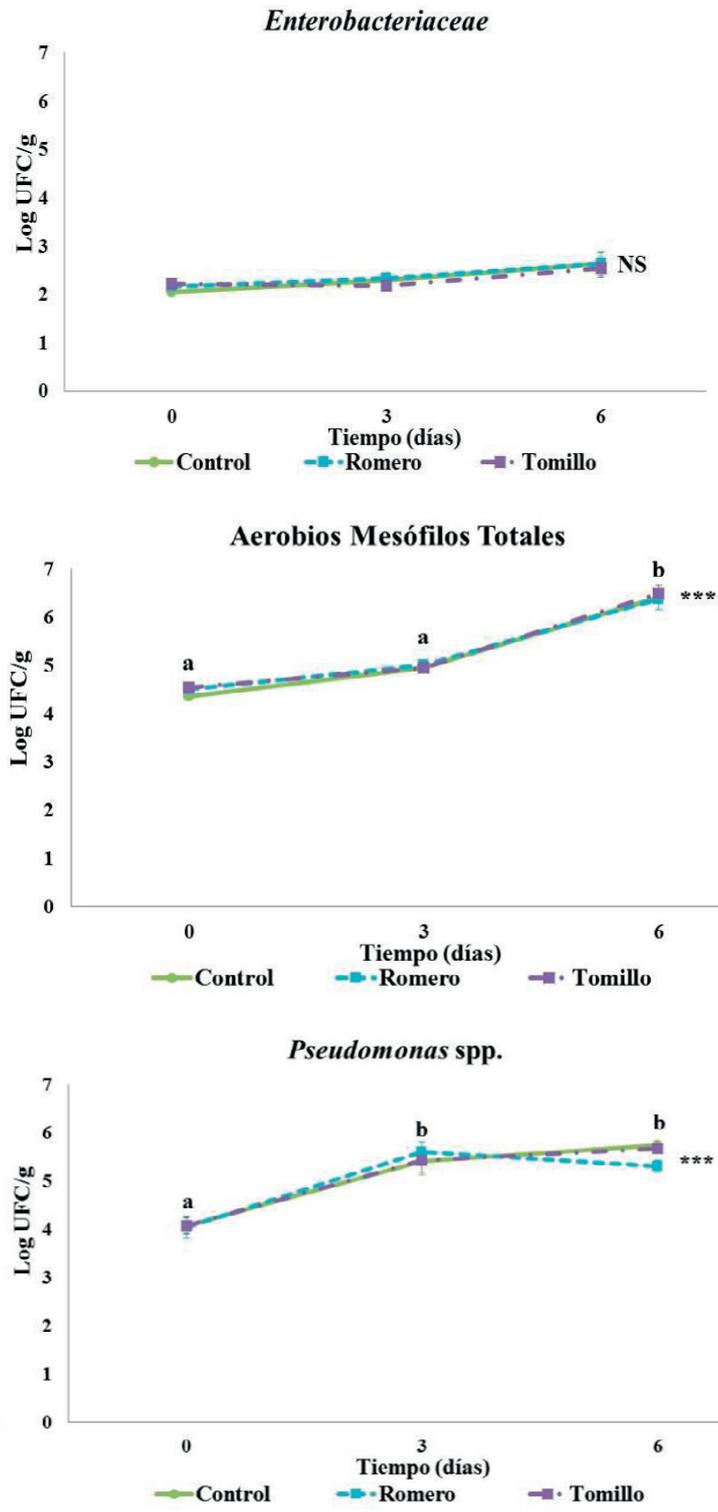
MATERIAL Y MÉTODOS

Las hamburguesas se elaboraron con piernas de cordero recental de raza Manchega. Tras el picado de la carne se realizaron tres lotes: Control (1% sal), Romero (1% sal + 0,1% romero molido) o Tomillo (1% sal + 0,1% tomillo molido). Se amasó cada tipo durante 5 minutos y tras el formado de las hamburguesas (100 g y 10 cm diámetro), éstas se conservaron envasadas convencionalmente bajo refrigeración a $2\pm 1^{\circ}\text{C}$. Los análisis se realizaron por duplicado a 0, 3 y 6 días post elaboración [n=8 por tipo (control, romero o tomillo) y tiempo de almacenamiento]. La calidad microbiológica se valoró mediante la determinación de aerobios mesófilos totales, *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas* spp. Para ello se homogeneizaron 5 g de muestra con 45 ml de agua peptonada. La siembra se realizó mediante un sembrador automático (Eddy-Jet, IUL-Instruments, Barcelona), por duplicado, en placas de Petri, con medios específicos para cada microorganismo. Las placas fueron incubadas a 32°C (durante un periodo de 48 h para aerobios mesófilos y de 24 h para *Enterobacteriaceae*). Para las *Pseudomonas* spp. las placas se incubaron a 25°C durante 48 h. El recuento de microorganismos se realizó con un contador automático (Counter-mat-Flash, IUL-Instrument, Barcelona) expresándose los resultados como logUFC/g. La oxidación lipídica se evaluó con el método de Tarladgis *et al.* (1964) expresando los resultados como mg de malondialdehído (MDA)/kg de carne. El efecto

de la especia y del periodo de almacenamiento sobre los parámetros descritos se llevó a cabo realizando un análisis de varianza (ANOVA) con el paquete estadístico SPSS v19.0 (IBM Corp., 2010). Para determinar diferencias entre pares de grupos se realizó un test Tukey con un nivel de significación de $P < 0,05$.

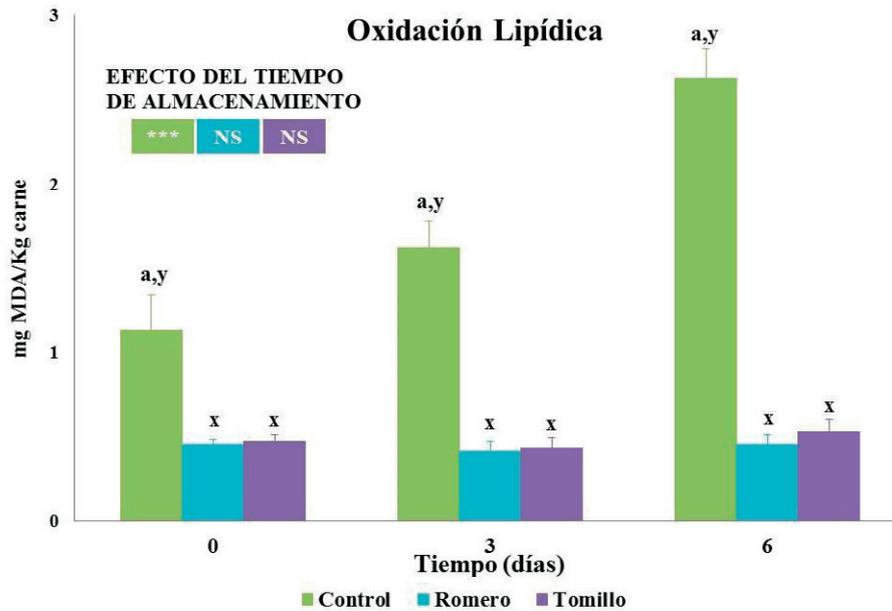
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tiempo de almacenamiento causó un incremento del recuento de aerobios mesófilos totales y *Pseudomonas* spp. [Figura 1], sin llegar a sobrepasar el umbral de aceptabilidad ($6,69 \log \text{UCF/g}$) establecido por el Reglamento (CE) N° 1441/2007 para carne picada en aerobios mesófilos. Tampoco se alcanzó el límite ($7 \log \text{UFC/g}$) al cual comienza a apreciarse un olor desagradable debido a los microorganismos alterantes (*Pseudomonas* spp.) (Jay, 2000). La adición de las especias estudiadas (romero o tomillo, ambas molidas) y a la concentración administrada (0,1%) no inhibió el crecimiento de microorganismos. Según Zaika (1988) la actividad antimicrobiana de las especias se ve afectada por el alimento, el microorganismo y la forma en la cual son añadidas. Ninguno de los factores estudiados (especia o tiempo de almacenamiento) afectó a las *Enterobacteriaceae*, cuyos recuentos se consideran un indicador de higiene y de contaminación tras el procesado (Zeitoun *et al.*, 1994). Los valores sugieren un alto nivel de higiene en la elaboración de las muestras estudiadas. Un aumento en la oxidación lipídica (Figura 2) durante el almacenamiento ha sido asociado a una mayor incorporación de oxígeno con el picado de la carne (Verma y Sahoo, 2000). Además el uso de sal en la preparación de productos cárnicos en concentraciones de 0,5 a 2,5% se considera como promotor del enranciamiento (Rhee y Ziprin, 2001). Estos factores (picado y sal) podrían explicar el incremento significativo ($P < 0,001$) de la oxidación lipídica observado en las muestras control durante el almacenamiento. Las hamburguesas especiadas mostraron valores de alrededor de 0,5 mg MDA/kg carne, hasta seis veces menores que las hamburguesas control, indicando una calidad óptima de estos productos (López y Menoyo, 2000). Ambas especias (romero y tomillo) mantienen la estabilidad oxidativa durante el almacenamiento.



*a, b: Letras distintas indican diferencias significativas debidas al tiempo de almacenamiento en el mismo tipo de hamburguesa; NS: No significativo; ***: P < 0,001.*

Figura 1. Efecto del tipo de especia y el tiempo de almacenamiento en la calidad microbiológica de las hamburguesas de cordero.



a, b: Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) debidas al tiempo de almacenamiento en el mismo tipo de hamburguesa; *x, y*: Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) debidas a las diferentes especias añadidas y en el mismo tiempo de almacenamiento; NS: No significativo; ***: $P < 0,001$.

Figura 2. Efecto del tipo de especia y el tiempo de almacenamiento en la oxidación lipídica de las hamburguesas de cordero.ninguno de los parámetros analizados.

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos, las hamburguesas de cordero estuvieron por debajo del límite microbiológico legal hasta los 6 días de almacenamiento. La adición de romero o tomillo (molidos) y a la concentración utilizada fue efectiva para mantener la estabilidad oxidativa, pero no causó un efecto inhibitorio del crecimiento microbiano.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras quieren dar las gracias al “Rincón de Ortega” por su ayuda. Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Proyecto PPII-2014-002-P, y beca pre-doctoral de A. Cózar).

BIBLIOGRAFÍA

- Bernabéu, R., & Tendero, A. (2005). Preference structure for lamb meat consumers. A spanish case study. *Meat Science*, 71, 464-470.
- Falowo, A.B., Fayemi, P.O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: a review. *Food Research International*, 64, 171-181.
- IBM Corp. (2010). IBM SPSS statistics for windows, version 19.0. Guide user. Armonk, new york, USA: IBM CORP.
- Jay, J. (2000). Microorganisms in foods: fresh meat and poultry. In: modern food microbiology. 6Th ed. Gaithersburg, maryland: an aspen publication, inc. 59-85.
- López, C., & Menoyo, D. (2000). La alimentación como factor de diferenciación de productos del cerdo. *Eurocarne*, 87, 67-77. Reglamento (CE) N° 1441/2007. (2007). Reglamento (CE) N° 1441/2007 de la comisión de 5 de diciembre de 2007, que modifica el reglamento (CE) N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Rhee, K.S., & Ziprin, T. A. (2001). Pro-oxidative effects of nacl in microbial growth-controlled and uncontrolled beef and chicken. *Meat Science*, 57, 105-112.
- Tarladgis, B.G., Pearson, A.M., & Dugan, L. (1964). Chemistry of the 2- tiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II. Formation of the TBA malonaldehyde complex without acid heat treatment. *Journal Science Food Agriculture*, 5, 602-607.
- Verma, S. P., & Sahoo, J. (2000). Improvement in the quality of ground chevon during refrigerated storage by tocopherol acetate preblending. *Meat Science*, 56, 403-413.
- Zaika, L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.
- Zeitoun, A.M., Debevee, J.M., & Mossel, D.A. (1994). Significance of enterobacteriaceae as index organisms for hygiene on fresh untreated poultry, poultry treated with lactic acid and poultry stored in a modified atmosphere. a, 11, 169-176.

HYGIENIC-SANITARY QUALITY OF SPICED LAMB BURGERS WITH ROSEMARY OR THYME

SUMMARY

The aim of this work was to determine the effect of powdered spices used (rosemary or thyme) in the manufacture of Manchego lamb burgers on the hygienic-sanitary quality (Total vial count, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. and lipid oxidation) during 6 days of storage in aerobic packaging. The microorganisms evaluated did not exceed the recommended limits (7logUFC/g) during the study period. The storage time affected the values of lipid oxidation ($P < 0.001$) in the control samples. By contrast, in the spiced burgers, this parameter remained stable during the storage period.

Key words: lamb, burgers, spices, shelf life.

INFLUENCIA DEL SISTEMA DE LACTANCIA SOBRE LA VALORACIÓN SENSORIAL DE LA CARNE DE CABRITO: OPINIÓN DE LOS CONSUMIDORES

PANEA, B.¹; RIPOLL, G.¹; ALBERTÍ, P.¹; CÓRDOBA, M.G.³ y ALCALDE, M.J.²

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Zaragoza, España.

²Departamento Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Sevilla, España.

³Departamento Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, EIA, Universidad de Extremadura, Badajoz, España.

RESUMEN

Se utilizaron 150 cabritos de 5 razas españolas para investigar el efecto del sistema de lactancia (natural o artificial) sobre la valoración sensorial de la carne por parte de los consumidores. Cada consumidor evaluó dos muestras de una misma raza, una de cada sistema de lactancia. La lactancia sólo afectó al sabor, ligeramente mejor en lactancia natural. Las variables psicográficas tuvieron poca influencia, pero existe una relación directa entre las notas y el gusto por la carne en general.

Palabras clave: consumidor, lactancia, sensorial.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las explotaciones caprinas de España están orientadas a la producción de leche, sobre todo en Andalucía, las Islas Canarias y Castilla La Mancha. En este tipo de explotaciones el cabrito es un subproducto, por lo que se desteta y se cría con leche artificial (Castel *et al.*, 2010). La lactancia artificial reduce los costes de producción y permite buenos crecimientos, pero algunos ganaderos prefieren la leche natural porque creen que se incrementa la calidad de la carne. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia del sistema de lactancia del cabrito sobre la valoración sensorial de su carne por parte del consumidor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se sacrificaron 30 machos de cada una de estas razas: Florida (FL), Payoya (PY), Cabra del Guadarrama (GU), Retinta Extremeña (RE) y Verata (VE). La mitad se crió con leche artificial y la otra mitad con las madres y se sacrificaron para alcanzar un peso canal objetivo de 4 kg. A las 24 horas del sacrificio se extrajeron los músculos *Longissimus lumborum* de ambas hemicanales, se envasaron al vacío, se maduraron 3 días y se congelaron a -20°C. Las muestras fueron distribuidas, congeladas, a 71 consumidores. Cada consumidor recibió dos muestras de una misma raza, una de lactancia natural y otra de lactancia artificial. Se les entregó un estadillo en el que se recogían algunas variables demográficas y psicográficas: sexo, edad, gusto por la carne en general, frecuencia semanal de consumo de carne, experiencia previa en la cata de carne de cabrito y carne consumida con mayor frecuencia. Además, se les pedía que valorasen sabor, jugosidad e impresión general, en una escala de 1 (muy malo) a 10 (muy bueno). Se utilizó un ANOVA con el sistema de lactancia como efecto fijo y un test de Duncan ($\alpha=0,05$) para diferencias entre medias. Se calcularon las frecuencias para las variables psicográficas empleadas y se realizó un GLM para estudiar la influencia de las algunas de ellas (sexo, edad y gusto por la carne en general) sobre la valoración sensorial. (SPSS 15.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias de la variables psicográficas se presentan en la Tabla 1. La muestra de consumidores estuvo equilibrada por sexos pero no por edades, siendo el grupo 26-40 el más numeroso (45,1%). El 86,8% de los consumidores había probado con anterioridad la carne de cabrito, lo cual es importante, ya que la experiencia previa con el producto modula la aceptabilidad del consumidor hacia el mismo (Sañudo *et al.*, 1998, Robinson *et al.*, 2013). Al 71,4% de los encuestados le gusta mucho la carne y el 77,1% la come entre 3 y 6 días a la semana, siendo el pollo la carne consumida con mayor frecuencia (56,4%). El sistema de lactancia sólo influyó sobre el sabor ($p=0,046$, Tabla 2), obteniendo la carne de los animales procedentes de lactancia natural notas más altas que la de lactancia artificial (7,2 y 6,7, respectivamente; error estándar =0,01). Zurita-Herrera *et al.* (2011) no encontraron diferencias en la valoración sensorial de la carne de cabritos de la raza Murciano-Granadina en función del sistema de lactancia, pero Panea *et al.* (2010) y Alcalde *et al.* (2013), trabajando con varias razas españolas, encontraron que los consumidores prefieren la carne de lactancia natural. Bañón *et al.* (2006) señalaron que el sistema de lactancia influye sobre algunas características de la carne de cabrito, especialmente sobre el porcentaje de humedad, mayor en lactancia artificial y sobre el perfil de ácidos grasos, ya que el lactoreemplazante suele fabricarse con leche de vaca. Según estos

últimos autores, estas diferencias repercuten en la valoración sensorial de la carne y así, la carne de animales procedentes de lactancia artificial presenta una mayor intensidad de olor y flavor a caprino y una menor dureza. Sin embargo, Dhanda *et al.* (2003) señalan que no está claro que una mayor intensidad de olor/flavor a caprino implique una mejora de la aceptabilidad de la carne.

De las variables demográficas y psicográficas estudiadas, sólo la edad y cuánto le gusta la carne al consumidor tuvieron un efecto significativo ($p < 0,05$; Tabla 2). La edad sólo afectó a la impresión general ($p = 0,029$), siendo el grupo de 26-40 el que dio las notas más bajas. En cuanto al gusto por la carne en general, cuanto más le gusta la carne al consumidor, más altas son las notas (Tabla 3). La influencia de los factores sociodemográficos sobre la apreciación de la carne no está clara y depende enormemente de las condiciones del experimento. Así, Panea *et al.* (2010) no encontraron influencia ni del género del consumidor ni de la frecuencia de consumo de carne sobre la valoración de la carne de cabrito y Rusell *et al.* (2004) no encontraron diferencias en función de la edad. Sin embargo, existen numerosos trabajos que demuestran que con la edad se pierde capacidad sensorial (Mojet *et al.*, 2005). Del mismo modo, es frecuente encontrar en la bibliografía un efecto del género del catador y así, Kubberod *et al.* (2002) concluyeron que las mujeres suelen dar puntuaciones más bajas que los hombres y Verbeke y Vackier (2004) describen que los hombres suelen presentar mayor apetencia por la carne en general que las mujeres.

Tabla 1. Frecuencias de aparición de cada respuesta en las variables psicográficas empleadas (porcentajes sobre respuestas válidas).

Variable	Niveles	Porcentaje
Sexo	Mujeres	49,3
	Hombres	44,6
	ns/nc	6,1
Edad	≤25	1,4
	26-40	45,1
	41-55	31,0
	>55	22,5
¿Había probado la carne de cabrito con anterioridad?	Sí	86,8
	No	13,2
¿Le gusta la carne?	Mucho	71,4
	Regular	25,7
	Poco	2,9
¿Cuántas veces a la semana come carne?	Pocas, 1 ó 2	18,6
	Entre 3 y 6	77,1
	Todos los días	4,3
La carne que más consume es la de...	Ternera	20,9
	Cordero	2,7
	Pollo	56,4
	Cerdo	18,2
	Otras	1,8

Tabla 2. Significación del sistema de lactancia de algunas variables demográficas y psicográficas sobre la valoración sensorial de la carne de cabrito de 5 razas españolas.

	Lactancia	Sexo	Edad	¿Le gusta la carne?
Sabor	0,046	0,131	0,157	0,012
Jugosidad	0,798	0,418	0,271	0,011
General	0,258	0,313	0,029	0,001

Tabla 3. Medias y e.e. para las variables en estudio en función de los factores con efecto significativo.

		Sabor	Jugosidad	Impresión general
¿Le gusta la carne?	Mucho	7,0 ^a	7,2 ^a	7,2 ^a
	Regular	6,8 ^a	6,8 ^a	6,9 ^a
	Poco	5,0 ^b	5,0 ^b	4,3 ^b
	e.e.	0,01	0,01	0,01
Edad	≤25			8,0 ^a
	26-40			6,5 ^b
	41-55			7,4 ^a
	>55			7,4 ^a
	e.e.			0,01

CONCLUSIONES

En las condiciones del presente experimento, puede concluirse que la carne de los animales criados lactancia natural obtuvo unas puntuaciones ligeramente mejores para el sabor que la de lactancia artificial. De las variables psicográficas sólo la edad y el gusto por comer carne tuvieron influencia. El grupo de 26 a 40 años fue el que dio las notas más bajas, y cuanto más le gusta la carne al consumidor, mayores son las notas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rocío Álvarez la colaboración prestada en el matadero y a las Asociaciones de Ganaderos que hayan aportado el material animal para el trabajo. Este trabajo ha sido financiado por el INIA (RTA2012-0023-C03).

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde, M.J., Ripoll, G., Campo, M.M., Horcada, A. y Panea, B. (2013). Valoración sensorial de la carne de cabritos de razas lecheras por comensales y cocineros. (2013). XXXVIII Congreso SEOC, Málaga, septiembre 2013. Actas del congreso, PP. 273-278.
- Bañón, S., Vila, R., Price, A., Ferrandini, E., y Garrido, M.D. (2006). Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Science*, 72(2), 216-221.
- Castel, J.M., Ruiz, F.A., Mena, y, Sánchez-Rodríguez, M. (2010). Present situation and future perspectives for goat production systems in Spain. *Small Ruminant Research*, 89-207-210.
- Dhanda, J.S., Taylor, D.G., y Murray, P.J. (2003). Part 1. Growth, carcass and meat quality parameters of male goats: effect of genotype and liveweight at slaughter. *Small Ruminant Research*, 50, 57-66.
- Kubberod, E., Ueland, O., Rodbotten, M., Westad, F., y Risvik, E. (2002). Gender specific preferences and attitudes towards meat. *Food Quality and Preference*, 13(5), 285-294.
- Mojet, J., Christ-Hazelhof, E., y Heidema, J. (2005). Taste perception with age: pleasantness and its relationships with threshold sensitivity and supra-threshold intensity of five taste qualities. *Food Quality And Preference*, 16, 413-423.
- Panea, B., Alcalde, M.J., Ripoll, G., Horcada, A. y Sañudo, C (2010). Multiple correspondence analysis as a tool to study the consumer's appraisal about suckling kid meat. A sense of quality congress, Vitoria (Spain), septiembre 2010. Actas del congreso.P1.011
- Robinson, E., Blisset, J. y Higgs, S. (2013). The influence of recent tasting experience on expected liking for foods. *Food Quality and Preference*, 27, 101-106.
- Russell, C.G., y Cox, D.N. (2004). Understanding middle-aged consumers' perceptions of meat using repertory grid methodology. *Food Quality and Preference*, 15(4), 317-329.
- Sañudo, C., Nute, G.R., Campo, M.M., Maria, G., Baker, A., Sierra, I., Enser, M.E., y Wood, J.D. (1998). Assessment of commercial lamb meat quality by British and Spanish taste panels. *Meat Science*, 48(1-2), 91-100.
- Verbeke, W., y Vackier, I. (2004). Profile and effects of consumer involvement in fresh meat. *Meat Science*, 67(1), 159-168.
- Zurita-Herrera, P., Delgado, J.V., Arguello, A., y Camacho, M.E. (2011). Multivariate analysis of meat production traits in Murciano-Granadina goat kids. *Meat Science*, 88, 447-453.

INFLUENCE OF LACTATION SYSTEM ON SUCKLING KID'S SENSORY EVALUATION: CONSUMERS' APPRAISSAL

SUMMARY

150 kids of 5 Spanish breeds were used to investigate the effect of the lactation system (natural or artificial) on the sensory evaluation of the meat by consumers. Each consumer tested two samples of a same breed, one of each lactation system. Lactation system only affected the taste, slightly better in natural lactation. Among the psychographic variables, only had importance the liking for the meat, and there is a direct relationship between the notes and the liking for the meat.

Key words: Consumer, lactation, sensory.

EFFECTO DEL SEXO Y DEL PESO AL SACRIFICIO SOBRE LA CONFORMACIÓN DE LA CANAL DE LA RAZA OVINA AUTÓCTONA DE LA COMUNIDAD DE MADRID RUBIA DE EL MOLAR

MIGUEL, E.; BLÁZQUEZ, B. y RUIZ DE HUIDOBRO, F.¹

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA). Ctra. A-2, Km 38,200. Apartado 127. 28800 Alcalá de Henares.

¹Dirección actual: Laboratorio Regional de Sanidad Animal. Comunidad de Madrid. Ctra. M-625, Km. 1,800. 28770 Colmenar Viejo.

RESUMEN

El peso al sacrificio ejerce un efecto muy importante sobre la conformación de la canal de corderos de la raza autóctona de la Comunidad de Madrid, Rubia de El Molar. Tanto las medidas tomadas sobre la canal entera, como las tomadas sobre la media canal, aumentaron significativamente con el peso vivo al sacrificio desde los 10 kg hasta los 25 kg de peso vivo. Las canales se van haciendo más redondeadas a medida que aumenta el peso vivo al sacrificio. Las canales de los machos presentaron una mayor longitud interna de la canal, y por lo tanto, un menor índice de compacidad de la misma, por lo que los machos presentaron unas canales algo menos redondeadas que las hembras. El peso al sacrificio tiene también una gran influencia sobre la apreciación visual de la conformación de las canales, sin que se observen diferencias significativas de apreciación visual de la conformación entre machos y hembras.

Palabras clave: Cordero, conformación, peso, sexo.

INTRODUCCIÓN

La conformación se define como el espesor de los planos musculares y adiposos en relación al tamaño del esqueleto. En las canales bien conformadas predominan los perfiles convexos y las medidas de anchura

sobre las de longitud (canal corta, ancha, redonda y compacta). Existe una estrecha relación entre la conformación, el grado de desarrollo y la forma que adoptan los músculos, por lo que en las canales bien conformadas aparece una mayor proporción de grasa, una menor proporción de tejido óseo y unos músculos más cortos y anchos. En la especie ovina la conformación no sirve para predecir la cantidad y el reparto del músculo, sino que más bien es un indicador del grado de engrasamiento (Kirton y Pickering, 1967). Sin embargo, tiene una gran importancia comercial, ya que predice la forma y el aspecto de las masas musculares, lo que es importante para la preferencia de los consumidores. El valor carnicero de la canal depende del peso, del porcentaje de cortes o piezas comerciales y del precio de las mismas. Los músculos cortos y anchos presentan una mayor superficie de corte, por lo que las canales con regiones bien conformadas tendrán un mayor valor económico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se han empleado 56 animales (28 machos y 28 hembras) de un rebaño experimental de ovejas de la raza Rubia de El Molar en la finca “El Encín” del Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria. Los animales se llevaron a distintos pesos vivos de sacrificio, de modo que los tratamientos estudiados han sido el sexo (machos y hembras) y el peso vivo al sacrificio (10, 15, 20 y 25 kg de peso vivo). Para la determinación de la conformación se llevaron a cabo medidas objetivas sobre la canal entera: 1) Medida G (anchura de la grupa). Es la anchura máxima entre los trocánteres de ambos fémures. Esta medida se toma con un compás de espesores o pelvómetro. 2) Medida Wr (anchura del tórax). Es la anchura máxima de la canal a nivel de las costillas. Esta medida también se toma con un compás de espesores o pelvómetro. 3) Medida B o perímetro de la grupa. Se mide en los trocánteres de ambos fémures, pasando por debajo de la cola, con una cinta métrica de tela. Es una medida correlacionada con el peso del músculo, buen predictor de la proporción de grasa en la canal. Una vez tomadas las medidas sobre la canal entera, se procedió a la separación de la cola a nivel de la articulación sacro-coxígea, y posteriormente se realizó la división longitudinal de las canales mediante una sierra eléctrica siguiendo el plano sagital. Sobre la media canal izquierda suspendida del corvejón, se realizaron las siguientes medidas internas: 1) Medida F o longitud de la pierna. Es la distancia entre el punto más caudal del periné y el punto más distal del borde medial de la superficie articular tarso-metatarsiana. Esta medida se toma con un metro rígido. 2) Medida L o longitud interna de la canal. Es la distancia

máxima entre el borde anterior de la sínfisis isquiopubiana y el borde anterior de la primera costilla en su punto medio. Esta medida también se toma con un metro rígido. 3) Medida Th o profundidad del tórax. Es la distancia máxima entre el esternón y el dorso de la canal a nivel de la sexta vértebra torácica. Se toma con compás de espesores o pelvómetro. A partir de todas estas medidas de conformación tomadas sobre la canal, se calcularon una serie de relaciones entre las mismas que nos dan una mejor idea de la forma de la canal. Entre estos índices se calcularon los siguientes: Índice de compacidad de la pierna (G/F), índice de compacidad de la canal (PCF/L), índice de redondez del pecho (Wr/Th) e índice de compacidad de la pierna (Peso pierna/F). La conformación se estimó también mediante la escala propuesta por Colomer-Rocher *et al.* (1988), utilizando los patrones fotográficos publicados por Colomer-Rocher (1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La legislación comunitaria no considera la evaluación de la conformación para clasificar las canales de menos de 13 kg. Sin embargo se recomienda su uso desde el punto de vista experimental. En la tabla 1 se observan las medias y el análisis de varianza de los efectos del peso vivo al sacrificio y del sexo sobre los diferentes parámetros de conformación de las canales. En relación con las medidas objetivas se observa que todas ellas están altamente influidas por el peso vivo al sacrificio ya que éste afecta directamente a las dimensiones de la canal ($P \leq 0,001$). Tanto las medidas tomadas sobre la canal entera como las tomadas sobre la media canal aumentaron significativamente con el peso vivo al sacrificio desde los 10 kg hasta los 25 kg de peso vivo. Las canales se van haciendo más redondeadas a medida que aumenta el peso vivo al sacrificio como muestra el aumento del índice de compacidad de la canal (PCF/L), que pasa de 120,47 en los corderos sacrificados a los 10 kg hasta los 200,91 en los corderos sacrificados a los 25 kg ($P \leq 0,001$). El índice de compacidad del pecho (Wr/Th) aumenta desde los 15 kg hasta los 25 kg (de 0,68 a 0,78) ($P \leq 0,01$) y la pierna va adquiriendo también una forma más compacta como indica el aumento del índice de compacidad de la pierna (Pierna/F) al aumentar el peso vivo al sacrificio (35,49 en los corderos de 10 kg, 49,20 en los de 15 kg, 54,37 en los de 20 kg y 61,54 en los de 25 kg, $P \leq 0,001$). El sexo únicamente presentó un ligero efecto ($P < 0,05$) sobre la longitud interna de la canal (L) y sobre el índice de compacidad de la canal (PCF/L), siendo los machos los que presentaron una mayor longitud interna de la canal ($P \leq 0,05$) y por lo tanto, un menor índice de compacidad de la misma ($P \leq 0,01$), es decir, los machos en definitiva presentaron unas canales algo menos redondeadas

que las que se obtuvieron de las hembras. En relación con las medidas subjetivas (tabla 1) se observa que el peso vivo al sacrificio tiene también una gran influencia sobre la apreciación visual de la conformación de las canales ($P \leq 0,001$), pasando de una puntuación de 0,97 en los corderos sacrificados a los 10 kg de peso vivo, a 1,27 puntos (15 kg), 1,59 en los de 20 kg y 1,79 en los corderos que alcanzaron los 25 kg de peso vivo al sacrificio. El sexo no presentó ningún efecto sobre la apreciación visual de la conformación de las canales, no encontrándose ninguna diferencia estadísticamente significativa entre machos y hembras. Es conocido que a medida que aumenta el peso de la canal la conformación mejora y las medidas de engrasamiento (apreciación visual, cantidad de grasa pélvicorrenal también (Bicer et al, 1995; Vergara *et al.*, 1999; Miguélez *et al.*, 2006). En relación con el efecto del sexo los resultados no son tan concluyentes. Pérez *et al.* (1995) observaron para corderos sacrificados a los 105 días que la conformación de los machos era mejor que la de las hembras. Sin embargo, Guía y Cañeque (1992) observaron que los machos y las hembras de la misma edad presentan medidas de conformación semejantes. En algunos estudios se ha mostrado una mayor compacidad en las canales de lechazo macho que en la de hembras (Miguélez *et al.*, 2006). Díaz *et al.*, (1999) en corderos de raza Manchega y Sancha *et al.*, (1996) en corderos de raza Talaverana no encontraron diferencias significativas entre la conformación de canales de machos y hembras.

Tabla 1. Medias y cuadrados medios del error de los parámetros de conformación de la canal de los corderos de raza Rubia de El Molar, según el peso vivo al sacrificio y el sexo.

	PESO SACRIFICIO				SEXO		Significación			
	10 kg	15 kg	20 kg	25 kg	M	H	Peso	Sexo	PxS	CME
	n=14	n=14	n=14	n=14	n=28	n=28				
G	14,54 ^a	16,75 ^b	18,18 ^c	19,32 ^d	17,14	17,25	***	NS	NS	0,47
B	40,50 ^a	45,82 ^b	49,61 ^c	51,93 ^d	46,68	47,25	***	NS	*	1,4
Wr	12,32 ^a	14,96 ^b	17,11 ^c	19,39 ^d	15,86	16,04	***	NS	NS	1,15
F	23,61 ^a	25,64 ^b	27,64 ^c	28,79 ^d	26,58	26,26	***	NS	NS	1,97
L	41,07 ^a	46,89 ^b	50,72 ^c	54,15 ^d	48,79 ^a	47,63 ^b	***	*	NS	3,32
Th	18,89 ^a	21,96 ^b	23,61 ^c	25,04 ^d	22,43	22,32	***	NS	NS	1,48
Wr/Th	0,66 ^a	0,68 ^a	0,73 ^a ^b	0,78 ^b	0,71	0,72	**	NS	NS	0,01
G/F	0,62	0,65	0,66	0,67	0,64	0,66	NS	NS	NS	0,00
Pierna/F	35,49 ^a	49,20 ^b	54,37 ^c	61,54 ^d	48,92	51,38	***	NS	NS	26,58
PCF/L	120,47 ^a	162,39 ^b	182,40 ^c	200,91 ^d	160,98	172,11	***	**	NS	205,74
CCC	0,97 ^a	1,27 ^b	1,59 ^c	1,79 ^d	1,35	1,46	***	NS	NS	0,05

Significación: *** ($P \leq 0,001$); ** ($P \leq 0,01$); * ($P \leq 0,05$); NS: no significativo. CME= Cuadrado medio del error. CCC: puntuaciones de estimación subjetiva de la conformación de la canal de acuerdo con la escala de Colomer-Rocher.

^{a, b, c, d} : Medias en la misma fila con distinta letra son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

CONCLUSIONES

Las medidas objetivas de conformación de la canal están altamente influidas por el peso vivo al sacrificio, y tanto las medidas tomadas sobre la canal entera, como las tomadas sobre la media canal aumentaron significativamente con el peso vivo al sacrificio desde los 10 kg hasta los 25 kg de peso vivo. También se produce un incremento de la apreciación visual de la conformación. El sexo únicamente presentó un ligero efecto sobre la longitud interna y el índice de compacidad de la canal y no se observó ningún efecto sobre la apreciación visual de la conformación de las canales.

BIBLIOGRAFÍA

- Bicer, O., Gueney, O., y Pekel E. (1995). Effect of slaughter weight on carcass characteristics of awassi male lambs. *J. Appl. Anim. Res.*, 8, 85-90.
- Colomer-Rocher, F. (1974). Tabla para la clasificación de canales ovinas. Hoja técnica, N° 3, INIA, Madrid. 19 PP.
- Colomer-Rocher, F., Delfa, R., y Sierra, I. (1988). Método normalizado para el estudio de los caracteres cuantitativos y cualitativos de las canales ovinas producidas en el área mediterránea, según los sistemas de producción. Cuadernos INIA, 17: 19-41.
- Díaz, M.T., Ruiz de Huidobro, F., Lauzurica, S., Velasco, S., Pérez, C., Cañeque, V., y Gayán, J. (1999). Parámetros productivos del lechal manchego. II. Engrasamiento y conformación, PP. 107-109. Información técnica económica agraria. Vol. Extra 20.
- Guía, E., y Cañeque, V. (1992). Crecimiento y desarrollo de cordero talaverano. Evolución de las características de su canal. Área de producción animal. Consejería de agricultura de las juntas de comunidades de Castilla-La Mancha.
- Kirton, A.H., y Pickering, F.S. (1967). Factors associated with differences in carcass conformation in lamb. *Nz J. Agric. Res.*, 10, 183.
- Miguélez, E., Zumalacárregui, J.M., Osorio, M.T., Beteta, O., y Mateo, J. (2006). Carcass characteristics of suckling lambs protected by the pgi “lechazo de castilla y león” european quality label: effect of breed, sex and carcass weight. *Meat Science*, 73, 82-89.
- Pérez, C., González-Chabbarri, E., e Hinarejos, G. (1995). Valoración productiva de los corderos Alcarreño-Manchegos post-destete y cebo. XIX Jornadas científicas de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia.
- Sancha, J.L., Pérez, C., Cantero, M.A., Velasco, S., Cañeque, V., Ruiz de Huidobro, F., López, D., Lauzurica, S., y Gayán, J. (1996). Producción de carne en corderos lechales de raza talaverana. II. Características de la canal y proporción de piezas. XXI Jornadas de La SEOC, 655-662. Logroño (España).
- Vergara, H., Molina, A., y Gallego, L. (1999). Influence of sex and slaughter weight on carcass and meat quality in light and medium weight lambs produced in intensive systems. *Meat Sci.*, 52, 221-226.

SEX AND SLAUGHTER WEIGHT EFFECT ON CARCASS CONFORMATION IN RUBIA DE EL MOLAR OVINE AUTOCHTHONOUS BREED OF THE COMMUNITY OF MADRID

SUMMARY

Slaughter weight has a great effect on carcass conformation of Rubia de El Molar breed. The measures taken on the carcass increased significantly as live weight at slaughter grew from 10 kg to 25 kg. The carcasses become more rounded with increasing live weight at slaughter. Males' carcasses had a greater carcass internal length (L), and hence a lower carcass compactness index than females. So, males showed a somewhat less rounded carcass than females. Slaughter weight has also a great influence on the visual assessment of carcass conformation according to Colomer-Rocher scale. Sex had no effect on the results of visual assessment of carcass conformation.

Key words: Lamb, carcass conformation, weight, sex.

MEDIDAS OBJETIVAS Y SUBJETIVAS DE LA CONFORMACIÓN Y DEL ESTADO DE ENGRASAMIENTO DE LA CANAL COMO PREDICTORAS DE LA CALIDAD SENSORIAL DE LA CARNE DE CORDERO RUBIO DE EL MOLAR

MIGUEL, E.; BLÁZQUEZ, B. y RUIZ DE HUIDOBRO, F.¹

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA). Ctra. A-2, Km 38,200. Apartado 127. 28800 Alcalá de Henares.

¹Dirección actual: Laboratorio Regional de Sanidad Animal.

Comunidad de Madrid. Ctra. M-625, Km. 1,800. 28770 Colmenar Viejo.

RESUMEN

Las medidas objetivas de la conformación de la canal muestran mejor correlación con las variables sensoriales que la escala de Colomer-Rocher. La anchura de la grupa, la longitud de la pierna y la longitud interna de la canal muestran una buena correlación con la dureza, elasticidad, jugosidad y apreciación. El espesor de la grasa subcutánea no muestra una correlación significativa con ninguno de los atributos sensoriales. Se observa una correlación significativa de las escalas de evaluación subjetiva del engrasamiento y la conformación con la apreciación y la dureza sensoriales. Cuando se emplean medidas objetivas de conformación se obtienen buenas predicciones para elasticidad, dureza y apreciación, mejores que las que se consiguen mediante un ensayo instrumental de textura.

Palabras clave: cordero; carne; conformación; sensorial.

INTRODUCCIÓN

Los criterios utilizados para definir la calidad de una canal son principalmente el peso, la conformación, el engrasamiento, la proporción de piezas y la composición tisular (Harrington y Kempster, 1989). Pero en los distintos eslabones de la cadena de comercialización se presentan diversas exigencias, a veces enfrentadas, pues al comprador

y al consumidor les importan los atributos sensoriales. En este trabajo se estudia la utilidad de la evaluación subjetiva del estado de engrasamiento y de la conformación de la canal para la predicción de la calidad sensorial de la carne de corderos entre 10 y 25 kg de peso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cincuenta y cinco corderos de ambos sexos de la raza ovina *Rubia de El Molar* fueron sacrificados al destete (lactancia natural), a intervalos de 5 kg, desde 10 hasta 25 kg (peso vivo de sacrificio, PVS). Las canales fueron pesadas en caliente (PCC) y en frío (PCF), tras 24 horas a 4°C. Las medidas objetivas y subjetivas de la conformación de la canal se realizaron de acuerdo con la metodología descrita en Ruiz de Huidobro *et al.* (2005). El espesor de la grasa subcutánea dorsal, la estimación del grado de engrasamiento y de la cantidad de grasa pélvicorrenal de la canal se realizó de acuerdo con lo descrito en Ruiz de Huidobro *et al.* (2005). El análisis sensorial y los ensayos instrumentales de textura se llevaron a cabo en muestras del músculo *Longissimus thoracis et lumborum* de acuerdo con Miguel *et al.*, (2015). El análisis estadístico se realizó mediante el paquete informático Statistica versión 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las correlaciones entre las medidas objetivas y subjetivas de conformación y estado de engrasamiento de la canal y las puntuaciones para la calidad sensorial de la carne. La sensación grasa y el número de masticaciones no presentaron una correlación estadísticamente significativa con parámetro alguno de estimación subjetiva u objetiva de la conformación o el estado de engrasamiento. El espesor de la grasa subcutánea tampoco muestra una correlación estadísticamente significativa con los atributos sensoriales.

En el caso de las escalas de conformación y estado de engrasamiento se observa una correlación significativa con la apreciación. La escala de la conformación muestra también una buena correlación con la dureza. A medida que la canal presenta mejor conformación y está más engrasada recibe puntuaciones menores de apreciación y mayores de dureza. No existe correlación significativa con la elasticidad, jugosidad, sensación grasa, flavor o número de masticaciones. En el caso de la conformación, las medidas objetivas muestran mejor correlación con las variables sensoriales que las puntuaciones de la escala de Colomer- Rocher. La anchura de la grupa, la longitud de la pierna y la longitud interna de la canal muestran una buena correlación con

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre las medidas objetivas y subjetivas de conformación y estado de engrasamiento de la canal y las puntuaciones otorgadas por los jueces para la calidad sensorial de la carne de cordero Rubio de El Molar.

	Dureza	Elasticidad	Jugosidad	Sensación grasa	Apreciación	Flavor	Masticaciones
Evaluación objetiva de la conformación y el estado de engrasamiento de la canal							
G	0,45*	0,28*	0,30*	0,05	-0,39*	0,06	0,11
B	0,44*	0,27	0,31*	0,03	-0,44*	0,04	0,09
WR	0,37*	0,15	0,29*	-0,01	-0,42*	-0,01	0,03
ESPM	0,04	-0,19	-0,04	-0,06	-0,25	-0,01	-0,16
F	0,47*	0,36*	0,33*	0,13	-0,38*	0,20	0,14
L	0,44*	0,29*	0,32*	0,08	-0,44*	0,12	0,08
TH	0,50*	0,35*	0,22	0,13	-0,45*	0,18	0,15
WR/TH	0,03	-0,15	0,17	-0,18	-0,14	-0,27	-0,12
G/F	0,02	-0,07	-0,02	-0,12	-0,05	-0,24	-0,03
PPIE/F	0,35*	0,16	0,21	-0,01	-0,50*	-0,07	0,01
PCF/L	0,39*	0,18	0,20	0,00	-0,49*	-0,04	0,03
Evaluación subjetiva de la conformación y el estado de engrasamiento de la canal							
CEC	0,24	-0,02	0,03	-0,10	-0,32	0,03	-0,04
CCC	0,33*	0,12	0,24	-0,03	-0,40*	0,01	0,11
CEU	0,25	0,00	0,02	-0,01	-0,32*	0,09	-0,09
CN	0,21	0,02	-0,01	-0,11	-0,31*	-0,05	-0,11
CPR	0,18	-0,06	-0,08	0,06	-0,28*	-0,02	0,02

*: Correlación estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$).

la dureza, elasticidad, jugosidad y apreciación. Sañudo (2008) muestra que las puntuaciones de acuerdo con la escala de la Unión Europea no están correlacionadas con la terneza, la aceptabilidad y el flavor, evaluados por los consumidores uruguayos. Ni el peso al sacrificio, ni el índice de compacidad de la canal, presentan unas relaciones claras con la aceptabilidad en corderos ligeros y pesados de pasto (raza Corriedale, de 3-4 meses de edad y 11,1 kg en canal y 12-13 meses y 19 kg en canal, respectivamente) evaluada por consumidores (Sañudo, 2008). Sí se encontraron correlaciones significativas con esos mismos parámetros para el porcentaje y el espesor de la grasa. En la tabla 2 se pueden observar las predicciones de la calidad sensorial de la carne mediante las medidas objetivas, y estimaciones subjetivas, de la conformación y el estado de engrasamiento. Se observa que las puntuaciones de acuerdo con los diferentes modelos de clasificación de la canal permiten una mala predicción de la calidad sensorial de la carne. Sólo el método de estimación subjetiva de la conformación es escogido para la predicción de la dureza y la apreciación, y éste método, junto con la escala de Ruiz de Huidobro *et al.* (2004) de estimación del estado de engrasamiento de la canal para la predicción de la jugosidad. El resto de las variables sensoriales no puede predecirse a partir de las escalas de estimación subjetiva del estado

de engrasamiento y conformación de la canal. La predicción mejora cuando se utilizan medidas objetivas. Se obtienen buenas predicciones para la elasticidad, dureza y apreciación. Para esas tres variables sensoriales la predicción obtenida es mejor que la que se consigue con un ensayo instrumental de textura en carne cruda y cocinada (test de Warner-Bratzler y análisis del perfil de textura, Tabla 2).

Tabla 2. Predicción de la calidad sensorial de la carne de cordero Rubio de el Molar por medio de las variables de estimación subjetiva y objetiva del estado de engrasamiento y la conformación de la canal y las variables de textura instrumental (WB yTPA) en carne cruda y cocinada

Evaluación subjetiva							
Dureza		Elasticidad		Jugosidad		Sensación Grasa	
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²
CCC	0,106			CCC	0,065		
				CN	0,093		
Apreciación		Flavor		Masticaciones			
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²		
CCC	0,146						
Evaluación objetiva							
Dureza		Elasticidad		Jugosidad		Sensación Grasa	
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²
TH	0,228	F	0,123	F	0,117	WR/TH	0,031
ESP	0,252	ESP	0,171			G	0,063
		TH	0,237				
		L	0,265				
		B	0,291				
		WR	0,312				
Apreciación		Flavor		Masticaciones			
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²		
Pierna/F	0,23	WR/TH	0,072	TH	0,026		
F	0,295	F	0,141	ESP	0,082		
F/Pierna	0,313			L	0,12		
				G	0,14		
Variables de textura instrumental							
Dureza		Elasticidad		Jugosidad		Sensación Grasa	
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²
WBcr	0,053	MTPAco	0,038	WBco	0,043	WBco	0,042
ETPAco	0,097	WBcr	0,067	WBcr	0,102	ETPAco	0,073
WBco	0,125			MTPAcr	0,122	WBcr	0,096
				DTPAcr	0,166	DTPAco	0,118
						MTPAcr	0,141
Apreciación		Flavor		Masticaciones			
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²		
DTPAco	0,195			DTPAcr	0,194		
MTPAco	0,223						

CONCLUSIONES

Las puntuaciones de la conformación de la canal muestran una buena correlación con la dureza y la apreciación. Las del estado de engrasamiento, con la apreciación. Las medidas objetivas de la conformación muestran una buena correlación con la dureza, elasticidad, jugosidad y apreciación. El espesor de la grasa subcutánea dorsal no está correlacionado con ninguno de los atributos sensoriales. La sensación grasa y el número de masticaciones no muestran correlación significativa con los parámetros de la canal. Los métodos subjetivos no permiten obtener buenas predicciones de la calidad sensorial. La utilización de métodos objetivos mejora la predicción que, para la dureza, elasticidad, apreciación y flavor, son mejores que la que se obtiene mediante ensayos instrumentales de textura.

BIBLIOGRAFÍA

- Harrington, G. Y Kempster, A.J. (1989). Improving lamb carcass composition to meet modern consumer demand. In reproduction, growth and nutrition in sheep, pp. 79-90. Agricultural Research Institute, Iceland.
- Miguel, E., Blázquez, B. y Ruiz de Huidobro, F. (2015). Calidad de la carne de la raza ovina autóctona de la comunidad de Madrid rubia de el molar I. Evolución de la calidad sensorial durante el desarrollo y predicción de las variables sensoriales por medio de variables instrumentales. XXXIX Congreso Nacional y XV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense, 17/19 De Septiembre De 2014. Publicación pp 202-204. Eds. Alcalde, M.J., De la Fuente, L.F., Adán, S. ISBN-10:84-697-1131-8.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Cañeque, V. y Velasco, S. (2005). Conformación, engrasamiento y sistemas de clasificación de la canal ovina. En estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA serie ganadera, pp 143-169. ISBN 84-7498-509-9.
- Sañudo, C. (2008). Calidad de la canal y de la carne ovina y caprina y los gustos de los consumidores. *R. Bras. Zootec*, 37, 143-160.

Abreviaturas utilizadas en el trabajo:

G: anchura de la grupa; *B*: perímetro de la grupa; *WR*: anchura del tórax; *ESPM*: espesor de la grasa subcutánea dorsal (mm); *F*: longitud de la pierna; *L*: longitud interna de la canal; *TH*: profundidad del tórax; *PPIE*: peso de la pierna; *PCF*: peso de la canal fría; *CEC*: puntuaciones de la escala de estimación subjetiva del estado de engrasamiento de Colomer-Rocher; *CCC*: puntuaciones de la escala subjetiva de estimación de la conformación de la canal de Colomer-Rocher; *CEU*: puntuaciones de la escala de la Unión Europea para la estimación del grado de engrasamiento de la canal; *CN*: puntuaciones de la escala de evaluación subjetiva del estado de engrasamiento de Ruiz de Huidobro; *CPR*: puntuaciones de la escala de estimación subjetiva de la cantidad de grasa pélvicorrenal de Colomer-Rocher. *WBcr*: Dureza Warner-Bratzler en carne cruda; *WBco*: Dureza Warner-Bratzler en carne cocinada; *DTPAc*: Dureza TPA en carne cruda; *DTPAc*: Dureza TPA en carne cocinada; *ETPAcr*: Elasticidad TPA en carne cruda; *ETPAco*: Elasticidad TPA en carne cocinada; *MTPAc*: Masticabilidad TPA en carne cruda; *MTPAc*: Masticabilidad TPA en carne cocinada.

OBJECTIVE AND SUBJECTIVE METHODS FOR ESTIMATION OF CARCASS CONFORMATION AND DEGREE OF FATNESS AS PREDICTORS OF MEAT SENSORY QUALITY OF RUBIA DE EL MOLAR OVINE BREED

SUMMARY

Objective measures for estimating carcass conformation show a better relationship with sensory variates than the scores according to Colomer-Rocher scale for subjective assessment of carcass conformation. Buttock width, leg length and internal carcass length show a good correlation with hardness, springiness, juiciness and pleasantness. Subcutaneous fat thickness does not show a statistically significant relationship with any of the sensory attributes. For scales of subjective estimate of carcass conformation and degree of fatness a significant correlation with pleasantness is observed. Colomer-Rocher scale for subjective estimation of carcass conformation also shows a good relationship to hardness. When objective measures are used, good predictions for springiness, hardness and pleasantness can be obtained. These three variables are better predicted by objective conformation measures than by instrumental texture variates, both in raw and in cooked meat. Key words: lamb; meat; conformation; sensory

MEDIDAS OBJETIVAS Y SUBJETIVAS DE ESTIMACIÓN DE LA CONFORMACIÓN Y DEL ESTADO DE ENGRASAMIENTO DE LA CANAL PARA LA PREDICCIÓN DE LA TEXTURA INSTRUMENTAL DE LA CARNE DE CORDERO RUBIO DE EL MOLAR

MIGUEL, E.; BLÁZQUEZ, B. y RUIZ DE HUIDOBRO, F.¹

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA). Carretera. A-2, Km 38,200. Apartado 127. 28800 Alcalá de Henares.

¹Dirección actual: Laboratorio Regional de Sanidad Animal. Comunidad de Madrid. Ctra. M-625, Km. 1,800. 28770 Colmenar Viejo.

RESUMEN

Las medidas objetivas y las estimaciones subjetivas del estado de engrasamiento y la conformación de la canal muestran una correlación significativa con la dureza TPA en carne cocinada. Asimismo, los métodos de estimación subjetiva están en general bien correlacionados con la masticabilidad TPA en carne cocinada, que también posee una correlación significativa con la profundidad del tórax, el espesor de la grasa subcutánea y algunos índices de conformación de la canal. Los métodos de estimación subjetiva están mejor correlacionados con la textura en carne cocinada que en carne cruda. Los métodos de estimación de la conformación de la canal y el grado de engrasamiento son útiles para la predicción de la calidad sensorial de la carne de cordero.

Palabras clave: cordero, carne, conformación, textura.

INTRODUCCIÓN

La textura se puede definir como el comportamiento mecánico de los alimentos bajo la acción de fuerzas, y es un parámetro de importancia para la aceptabilidad de la carne. Se puede estudiar por medio del análisis instrumental o por medio del análisis sensorial. Smith (2001) establece que la ternera de la carne depende de la cantidad de colágeno,

la complejidad del mismo, la longitud de los sarcómeros, la cantidad de grasa intramuscular y la actividad de las proteasas endógenas. En este artículo se estudia la utilidad de las medidas objetivas y las escalas subjetivas de estimación de la conformación y estado de engrasamiento de la canal para la predicción de la textura en carne cruda y cocinada de la carne de cordero Rubio de El Molar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cincuenta y cinco corderos de ambos sexos de la raza ovina *Rubia de El Molar* fueron sacrificados al destete (lactancia natural), a intervalos de 5 kg, desde 10 hasta 25 kg (peso vivo de sacrificio, PVS). Las canales fueron pesadas en caliente (PCC) y en frío (PCF), tras 24 horas a 4 °C. Las medidas objetivas y subjetivas de la conformación de la canal se realizaron de acuerdo con la metodología descrita en Ruiz de Huidobro *et al.* (2005). El espesor de la grasa subcutánea dorsal, la estimación del grado de engrasamiento y de la cantidad de grasa pélvicorrenal de la canal se realizó de acuerdo con lo descrito en Ruiz de Huidobro *et al.* (2005). El análisis sensorial y los ensayos instrumentales de textura se llevaron a cabo en muestras del músculo *Longissimus thoracis et lumborum* de acuerdo con Miguel *et al.*, (2015). El análisis estadístico se realizó mediante el paquete informático Statistica versión 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra los estudios de correlación entre las medidas objetivas y subjetivas de conformación y estado de engrasamiento de la canal y las variables de textura instrumental en carne cruda y cocinada (Warner-Bratzler y TPA). Las medidas objetivas y las estimaciones subjetivas muestran una correlación significativa con la dureza TPA en carne cocinada. Asimismo todos los métodos de estimación subjetiva (salvo el de la cantidad de grasa pélvicorrenal) están bien correlacionados con la masticabilidad TPA en carne cocinada, que también presenta una correlación significativa con la profundidad del tórax, el espesor de la grasa subcutánea y algunas relaciones entre variables objetivas de determinación de la conformación de la canal. Las puntuaciones para los métodos de estimación del grado de engrasamiento y cantidad de grasa pélvicorrenal también están correlacionadas con la elasticidad TPA en carne cocinada. En el caso de la dureza Warner-Bratzler en carne cruda se observa una correlación significativa con la anchura y el perímetro de la grupa y la longitud de la pierna (tabla 1). La predicción de la textura instrumental (tabla 2) muestra que, para las variables de estimación subjetiva, sólo se obtienen buenas predicciones para la dureza TPA en

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre las medidas objetivas y subjetivas de conformación y estado de engrasamiento de la canal y las variables de textura instrumental (Warner-Bratzler y Análisis del Perfil de Textura) en carne cruda y cocinada de corderos Rubios de El Molar.

	WB cr	DTPAcr	ETPAcr	MTPAcr	WBco	DTPco	ETPAco	MTPAco
Evaluación objetiva de la conformación y el estado de engrasamiento de la canal								
G	0,27*	0,12	0,13	0,15	0,01	0,33*	0,04	0,24
B	0,33*	0,13	0,14	0,14	0,04	0,35*	0,04	0,26
WR	0,24	0,08	0,12	0,10	0,00	0,30*	0,04	0,20
ESPM	-0,10	-0,21	-0,26	-0,19	0,04	0,35*	0,18	0,27*
F	0,26	0,09	0,18	0,13	0,14	0,30*	0,06	0,25
L	0,28*	0,09	0,17	0,13	0,04	0,33*	0,00	0,24
TH	0,19	0,05	0,08	0,13	0,07	0,45*	0,14	0,36*
WR/TH	0,19	0,09	0,08	0,04	-0,09	-0,02	-0,08	-0,07
G/F	0,06	0,08	-0,04	0,06	-0,17	0,06	-0,02	0,02
PPIE/F	0,30*	0,10	0,08	0,11	-0,04	0,43*	0,15	0,33*
PCF/L	0,25	0,08	0,07	0,10	0,00	0,43*	0,15	0,33*
F/PPIE	-0,32*	-0,15	-0,13	-0,15	0,09	-0,38*	-0,09	-0,27*
Evaluación subjetiva de la conformación y el estado de engrasamiento de la canal								
CEC	0,00	-0,08	0,05	-0,06	0,12	0,39*	0,29*	0,35*
CCC	0,10	-0,02	0,07	-0,03	-0,02	0,38*	0,15	0,32*
CEU	0,01	-0,02	0,01	-0,01	0,00	0,40*	0,25	0,34*
CN	-0,09	-0,08	-0,03	-0,08	-0,01	0,38*	0,29*	0,30*
CPR	-0,26	-0,19	-0,25	-0,18	-0,05	0,27	0,33*	0,22

*: Correlación estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$); G: anchura de la grupa; B: perímetro de la grupa.

Tabla 2. Predicción de la textura instrumental (WB y TPA) de la carne de cordero Rubio de El Molar en carne cruda y cocinada por medio de las variables de estimación subjetiva y objetiva del estado de engrasamiento y la conformación de la canal.

Evaluación subjetiva										
	WBCR	DTPAcr		ETPAcr		MTPAcr		WBco		
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	
CCC	0,036	CPR	0,036	CPR	0,067	CPR	0,032	CEC	0,026	
CPR	0,095	CEU	0,067	CEU	0,134	CEU	0,062	CEU	0,092	
		CEC	0,101	CEC	0,154					
DTPAco		ETPAco		MTPAco						
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²					
CEU	0,201	CN	0,097	CEU	0,152					
CCC	0,226									
Evaluación objetiva										
	WBCR	DTPAcr		ETPAcr		MTPAcr		WBco		
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²	
B	0,108	ESP	0,046	ESP	0,066	ESP	0,037	G/F	0,029	
ESP	0,186	L/PCF	0,165	L/PCF	0,198	L/PCF	0,146			
PPIE/F	0,225	B	0,191							
DTPAco		ETPAco		MTPAco						
Variable	R ²	Variable	R ²	Variable	R ²					
TH	0,200	ESP	0,034	TH	0,131					
L	0,236	WR/TH	0,054	L	0,176					
PPIE/F	0,276									
G/F	0,318					F/PPIE	0,252			
F/PPIE	0,333					G/F	0,279			

carne cocinada. Las variables que se seleccionan son la escala de la UE y la escala de conformación. Las escalas de estimación del grado de engrasamiento tienen una alta correlación con el contenido de grasa intramuscular de la carne, y la de estimación de la conformación con el contenido de colágeno (datos no mostrados). Mediante estas escalas se predice mejor la textura TPA de la carne cocinada que la calidad sensorial. Cuando se utilizan medidas objetivas se obtienen mejores predicciones. Igualmente los mejores resultados se obtienen para la dureza TPA en carne cocinada. Buenas predicciones se observan también para la dureza Warner-Bratzler en carne cruda y para la masticabilidad TPA en carne cocinada. En la tabla 3 se puede apreciar la predicción de la calidad sensorial de la carne a partir de las medidas de engrasamiento y conformación de la canal y de las variables de textura instrumental en carne cruda y cocinada. Para todas las variables sensoriales, salvo para la sensación grasa, la primera variable incluida en el modelo es una medida objetiva de conformación de la canal. La inclusión de las medidas objetivas y subjetivas del engrasamiento y la conformación de la canal mejora la predicción de la textura sensorial de la carne.

Tabla 3. Predicción de la calidad sensorial de la carne de cordero Rubio de El Molar a partir de las variables de estimación subjetiva y objetiva del estado de engrasamiento y la conformación de la canal y de textura instrumental (WB y TPA) en carne cruda y cocinada.

Nº	Dureza	Elasticidad	Jugosidad	Sensación grasa	Apreciación	Flavor	Masticaciones
	R ²						
	0,378	0,424	0,316	0,387	0,427	0,141	0,271
1	TH	F	F	WBco	PPIE/F	WR/TH	TH
2	WBco	ESPM	WBco	ETPAco	DTPAco	F	ESPM
3	ESPM	TH	DTPAco	WR/TH	G/F		L
4	CPR	L	MTPAco	F	WBcr		CCC
5	G	B	B	DTPAco	WBco		CN
6	L	MTPAcr		CN	CN		CPR
7	F	WBcr		CEU			G
8		DTPAcr		B			CEC
9		WR		CEC			
10		G/F		MTPAcr			

CONCLUSIONES

Las medidas objetivas y las estimaciones subjetivas del estado de engrasamiento y la conformación de la canal muestran una correlación significativa con la dureza TPA en carne cocinada. Todos los métodos de estimación subjetiva (salvo el de la cantidad de grasa pélvicorrenal) están bien correlacionados con la masticabilidad TPA en carne cocinada.

Para esta variable también se observa correlación significativa con la profundidad del tórax, el espesor de la grasa subcutánea y algunas relaciones entre variables objetivas de determinación de la conformación de la canal. En el caso de la dureza Warner-Bratzler en carne cruda se observa una correlación significativa con la anchura y el perímetro de la grupa y la longitud de la pierna. No existe correlación significativa entre esta variable y los métodos de estimación subjetiva de la conformación y el engrasamiento de la canal. Los métodos de estimación subjetiva de la conformación y el engrasamiento de la canal están mejor correlacionados con la determinación instrumental de la textura en carne cocinada que en carne cruda, y son útiles para la predicción de la calidad sensorial de la carne de cordero.

BIBLIOGRAFÍA

- Miguel, E., Blázquez, B. y Ruiz de Huidobro, F. (2015). Calidad de la carne de la raza ovina autóctona de la Comunidad de Madrid Rubia de El Molar I. Evolución de la calidad sensorial durante el desarrollo y predicción de las variables sensoriales por medio de variables instrumentales. XXXIX Congreso Nacional y XV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense, 17/19 de septiembre de 2014. Publicación pp 202-204. Eds. Alcalde, M.J., De la Fuente, L.F., Adán, S. ISBN- 10:84-697-1131-8.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Cañeque, V. y Velasco, S. (2005). Conformación, engrasamiento y sistemas de clasificación de la canal ovina. En Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA Serie ganadera, pp 143-169. ISBN 84- 7498-509-9.

Abreviaturas citadas en este trabajo:

WR: anchura del tórax; ESPM: espesor de la grasa subcutánea dorsal (mm); F: longitud de la pierna; L: longitud interna de la canal; TH: profundidad del tórax; PPIE: peso de la pierna; PCF: peso de la canal fría; CEC: puntuaciones de acuerdo con la escala de estimación subjetiva del estado de engrasamiento de Colomer-Rocher; CCC: puntuaciones de acuerdo con la escala subjetiva de estimación de la conformación de la canal de Colomer-Rocher; CEU: puntuaciones de acuerdo con la escala de la Unión Europea para la estimación del grado de engrasamiento de la canal; CN: puntuaciones de acuerdo con la escala de evaluación subjetiva del estado de engrasamiento de Ruiz de Huidobro; CPR: puntuaciones de acuerdo con la escala de estimación subjetiva de la cantidad de grasa pélvicorrenal de Colomer-Rocher. WBcr: Dureza Warner-Bratzler en carne cruda; WBco: Dureza Warner-Bratzler en carne cocinada; DTPAc: Dureza TPA en carne cruda; DTPAco: Dureza TPA en carne cocinada; ETPAc: Elasticidad TPA en carne cruda; ETPAco: Elasticidad TPA en carne cocinada; MTPAc: Masticabilidad TPA en carne cruda; MTPAco: Masticabilidad TPA en carne cocinada.

OBJECTIVE AND SUBJECTIVE METHODS FOR ESTIMATION OF CARCASS CONFORMATION AND DEGREE OF FATNESS AS PREDICTORS FOR INSTRUMENTAL TEXTURE PARAMETERS OF RUBIA DE EL MOLAR OVINE BREED

SUMMARY

Objective measures and subjective estimation methods for carcass degree of fatness and carcass conformation show a significant correlation with TPA hardness in cooked meat. All subjective estimation methods (except for the amount of kidney knob and channel fat) are also well correlated to TPA chewiness in cooked meat, that show a significant relationship to chest width, to subcutaneous fat thickness and to some indexes of carcass conformation. Methods for subjective estimation of degree of fatness and carcass conformation are better correlated to instrumental texture determination in cooked meat than to instrumental texture assays in raw meat. Methods to estimate carcass conformation and degree of fatness are useful for predicting sensory quality in lamb meat.

Key words: lamb; meat; conformation; texture.

BUENO, M.S.^{1,*}; BARBOSA, C.M.P.²; CANOVA, E.B.³; MOREIRA, E.L.³; ISSAKOWICZ, J.³ y SAMPAIO, A.C.³

¹Instituto de Zootecnia/APTA/SAA-SP, Nova Odessa-SP, Brasil;

²Pólo Regional de Sudoeste Paulista/APTA/SAA-SP, Itapetininga-SP, Brasil.

³Programa de postgrado “Producción Animal Sostenible” – Instituto de Zootecnia/APTA/SAA-SP. Nova Odessa-Sp.

*msbueno@iz.sp.gov.br

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la sustitución de la harina de soja por torta de crambe en el rendimiento y la calidad de la carne de corderos de cebo. Se utilizaron 24 corderos cruzados Dorper con peso vivo inicial de $19,2 \pm 2,5$ kg y alrededor de 70 días, de dietas con heno de hierba (30%) y concentrados (70%), compuesto de maíz molido, harina de soja y/o torta o crambe y minerales. Los tratamientos fueron niveles crecientes de sustitución de soja por torta crambe (0, 22,44 y 66%). La sustitución por torta crambe empeoró el rendimiento productivo. La calidad de la carne se vió afectada, con disminución de la grasa, aumento de la fuerza de corte y disminución de la luminosidad. El perfil de ácidos grasos se modificó drásticamente por el aumento del contenido de ácido erúxico, pasando de 0,007 en la dieta sin torta crambe, a 0,218; 0,275 y 0,403 g/100 g de carne, en las dietas con 22, 44 y 64 % de torta de crambe, respectivamente. Por lo tanto, la carne de cordero, incluso con el más bajo nivel de substitución (22,2%), no es apropiada para el consumo humano (US FDA, 2014).

Palabras clave: Ovino, biodiesel, erúxico, ácidos grasos.

INTRODUCCIÓN

La Crambe (*Crambe abyssinica* hochst) es una planta oleaginosa, de ciclo corto, con origen en la región mediterránea. Tiene un alto potencial para la producción de biodiesel, dado su menor sensibilidad a los déficits hídricos y menor exigencia en cuanto a la fertilidad del suelo. Por esta razón, puede ser cultivada en una amplia gama de condiciones, tanto en las zonas tropicales como en las templadas. La extracción de aceite de las semillas de crambe por prensado origina una torta de crambe, un sub-producto con alto contenido de proteínas y aceite residual. Aunque un estudio reciente (Canova *et al.*, 2014) identificó una reducción en el consumo de materia seca y de la digestibilidad con proporciones crecientes de torta de crambe en sustitución de la harina de soja en las dietas de cordero, poco se sabe sobre el efecto de esta sustitución en el rendimiento, características de la canal y calidad de la carne.

La Torta de Crambe es rica en aceites residuales, que no se extraen plenamente en el proceso de prensado. La concentración de ácido erúxico (22:1 ω -9) es particularmente alta en la torta. Investigaciones anteriores han demostrado consistentemente que el ácido erúxico se asocia con un número de disturbios metabólicos (Clemente y Renner, 1977) que perjudican el rendimiento animal. Además, el ácido erúxico también se puede incorporar en los productos finales de carne. Sin embargo, el grado en que se incorpora el erúxico en la carne aún no se ha establecido plenamente, ya que los rumiantes pueden hidrogenar parcialmente los ácidos grasos insaturados. La concentración máxima de ácido erúxico en aceites y grasas para consumo humano no debe superar 2% del total de los ácidos grasos (US FDA, 2014 y FAO WHO 2011).

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la granja experimental de APTA (Agencia de Tecnología de los Agro-negocios del Estado de São Paulo), ubicado en la ciudad de Itapetininga -São Paulo, Brasil, con 24 corderos cruzados Dorper con peso vivo inicial de $19,2 \pm 2,5$ kg y alrededor de 70 días de edad. Los corderos se mantuvieron en corrales individuales (1,2 m²), alimentados con dietas con la relación 30% de heno de hierba y 70% de mezcla de concentrado, compuestas con grano de maíz molido, harina de soja y/o torta de crambe y minerales, con 16% de PC y alrededor de 70% de NDT. La torta de crambe poseía 24,7% de PC, 29,6% de EE, 29,3% de FDN, 21,54% FDA, 8,7% lignina y 62,3% de ácido erúxico. Los corderos fueron distribuidos en 4 tratamientos con niveles crecientes de sustitución de proteína de la harina de soja por la proteína de la torta de crambe (0%, 22%, 44% y 66%). El diseño estadístico fue de bloques

al azar y fueron sometidos a análisis de regresión (lineal y cuadráticos) mediante el procedimiento REG (SAS, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aumento de la sustitución de la harina de soja por torta de crambe resultó en una disminución lineal ($p < 0,05$) de la ganancia de peso vivo (total y diario) y de la ingestión diaria de materia seca (Tabla 1), así como en una disminución lineal significativa ($p < 0,05$) en el peso de la canal y, por lo tanto, en los pesos de las diferentes piezas. Esto puede ser resultado del aumento en la concentración de ácido erucico en las dietas, debido a los efectos tóxicos de este ácido graso. Según Clemente y Renner (1977), pollos alimentados con dietas con ácido erúcico tuvieron un empeoramiento del rendimiento productivo y una disminución de la deposición de grasa en la carne, debido a una disminución de eficiencia de la utilización de la energía de la dieta. La disminución de la eficiencia energética y sus efectos tóxicos pueden haber afectado al consumo de alimento, ganancia de peso vivo y, consecuentemente, el peso de las canales de los corderos.

Tabla 1. Rendimiento productivo de corderos alimentados con niveles creciente de torta de crambe.

Variables	Niveles de sustitución (%)				p	E.S.	R ²	Ecuación
	0	22	44	66				
PVI (kg)	19,8	19,7	19,9	19,9	0,83	0,48	0,95	Y=19,8
PVF (kg)	37,7	36,9	35,9	34,6	0,043	1,22	0,86	Y=37,7-0,042X
GPV (kg)	17,9	17,3	16,1	14,7	0,048	1,04	0,64	Y=17,5-0,039X
IMSD (g)	976	948	913	875	0,036	45,1	0,68	Y=967-1,31X
PCC(kg)	18,0	17,8	16,7	15,7	0,021	0,73	0,83	Y=18,3-0,41X
RCC (%)	48,9	47,0	46,5	45,1	0,052	1,31	0,43	Y=49,2-0,071X
PCF (kg)	17,7	17,1	16,1	15,4	0,036	0,68	0,78	Y=18,1-0,032X
RCF (%)	46,8	45,3	44,8	44,1	0,048	1,02	0,56	Y=47,1-0,061X

PVI- Peso Vivo Inicial, PVF- Peso Vivo Final, GPV- Ganancia de peso vivo, IMS- Ingestión de materia seca diaria, PCC- Peso en canal caliente, RCC- Rendimiento de canal caliente, PCF- Peso de canal fría, RCF- Rendimiento en canal fría, E.R.- error estándar,

También se observó una asociación negativa entre la proporción de la torta de crambe y la calidad de la carne. La sustitución de la torta crambe aumentó ($p < 0,05$) la fuerza de corte (2,03 kg; 2,61 kg; 2,74 y 3,13 kg, respectivamente) y el valor de L* (34,1; 34,0; 33,7 y 32,5, respectivamente), sin alterar a* (Y=12,97) ni b* (Y=4,12) ni el pH (Y=5,6).

Aunque el análisis centesimal de muestras de músculo *Longissimus* no reveló diferencias significativas en el contenido de agua (Y=73,89%) proteína (Y=15,2%) o cenizas (Y=4,76%) entre tratamientos, el aumento de los niveles de la torta de crambe en la dieta se asoció negativamente con el contenido de grasa en las muestras de *Longissimus* (6,88; 6,67; 5,92, 5,83%, respectivamente). Se sabe que estas características afectan negativamente a la preferencia del consumidor, ya que el color es el principal factor que explica las decisiones de compra y la terneza determina la aceptación en términos de calidad (Font-i-Furnols y Guerrero, 2014).

El perfil de los ácidos grasos se modificó por el aumento de los niveles de la torta de crambe en la dieta, con disminución de los ácidos poliinsaturados, principalmente alfa- linoléico, sin alterar los saturados. Hubo una disminución en el contenido de ácido oleico, de 2,7 (0%) a 1,5 g/100 g de carne (66% de torta de crambe) y un aumento lineal ($p<0,05$) en el contenido de ácido erúxico en la carne de los corderos alimentados con niveles crecientes de torta de 0,007; 0,218; 0,275; 0,403 g/100g de carne, respectivamente. La presencia de ácido erúxico en la carne de los corderos es preocupante, ya que puede ser tóxico para los consumidores (FDA, 1985), pues puede llevar a cardio-toxicidad en humanos (Iamamura *et al.*, 2013). En nuestro estudio, las muestras de carne tenían concentraciones de 0,11; 3,69; 5,82 y 8,04% de ácido erúxico en los lípidos totales con la inclusión de 0, 22,2, 44 y 64% de la torta de crambe en la dieta de corderos, respectivamente, Por lo tanto, la carne de cordero producida, incluso con el nivel más bajo de sustitución (22%), no es apropiada para el consumo humano, pues el límite máximo es 2% según determinación del US FDA (2014) y FAO WHO (2011).

CONCLUSIONES

La sustitución de harina de soja por torta de crambe empeora el rendimiento productivo de corderos en cebo, así como la calidad de su carne, debido a los efectos tóxicos del ácido erúxico. El tratamiento con 22% de sustitución por tortas de crambe no es apropiado para consumo humano, según las recomendaciones de US FDA y FAO-WHO, ya que se supera el nivel máximo recomendado del 2% de los ácidos grasos totales.

AGRADECIMIENTOS

Financiado por CNPq n° 574172/2008-4.

BIBLIOGRAFÍA

- Canova, E.B., Bueno, M.S., Moreira, E.L., Possenti, R.A., Brás, P. Crambe cake (*Crambe abyssinica* Hochst) on lamb diets. (2015). *Ciênc. Agrote*, 39(1):75-81.
- Clement, H., Renner, R. (1977). Studies of the utilization of high and low erucic acid rapeseed oils by the chick. *J. Nutr*, 107: 251-260.
- Font-i-Furnol, M., Guerrero, L. (2014). Consumer preference and perception about meat and meat products. *Meat Science*, 98, 361-371.
- Imamura, F., Lemaitre, R.N., King, I.B., Song, X., Steffen, L.M., Folsom, A.R., Siscovick, D.S., Mozaffarian, D. Long-Chain. (2013). Monounsaturated fatty acids and incidence of congestive heart failure in two prospective cohorts. *Circulation*, 127(14):1512-1521.
- Joint FAO/WHO. Food standards programme, codex alimentarius commission, fats, oils and related products, vol, 8 of codex alimentarius (2nd edn) [online], (revised 2001), DISPONIBLE: <http://www.fao.org/docrep/004/y2774e/y2774e00.htm> [19 January 2015],
- U.S. Food and drug administration. Food for human consumption. Crf – code of federal regulations, (2014), V.3, title 21,. Disponible en: <http://www.Accessdata.Fda.Gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/cfrsearch.Cfm?Cfrpart=184&showfr=1>; acceso en: 18/03/2015

PERFORMANCE AND MEAT TRAITS OF LAMBS FED WITH CRAMBE CAKE

SUMMARY:

The effect of substitution of soybean meal with crambe cake on performance and meat quality was evaluated. Twenty four Dorper crossed lambs, with initial body weight of 19.2 ± 2.5 kg and about 70 days of age were used. They are fed with diet with grass hay (30%) and concentrated mixture (70%) with ground corn, soybean meal and / or crambe cake and minerals. The treatments were increasing levels of replacement of soybean meal protein with cake crambe protein (0, 22, 44 and 66%). The replacement with crambe cake impairs performance and meat quality, with reduction of meat fat, increased shear force and reduced luminosity (L^*). The fatty acid profile of lamb's meat was drastically changed by increase in erucic acid from 0.007 in the diet without crambe cake, to 0.218; 0.275 and 0.403 g/100 g of meat, in diets com 22, 44 and 64% of crambe cake. Therefore, lamb's meats produced even with the lowest level of crambe cake (22.2%) are not appropriate for human consumption, according to the US FDA (2014).

Key words: Sheep, biodiesel residue, erucic, fat acids.

MIOGLOBINA SUPERFICIAL DE CARNE DE OVINO ALMACENADA AL VACÍO EN REFRIGERACIÓN Y CONGELADA-DESCONGELADA

CORIA, H. J.*; LLORENTE B. A.** y ÁLVAREZ, S. A***

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México Carretera km 2.5 carretera Cuautitlán Teoloyucan s/n, Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán Izcalli, Estado de México. México.

* jonathancoria@hotmail.com; **llorente@unam.mx;

***alicia_ia33@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se buscó establecer el efecto del tiempo de almacenamiento al vacío, en refrigeración a 4°C y del tipo de descongelación (rápida o lenta) en el pH y color (mioglobina superficial) de la carne de ovino. Se utilizó carne de pierna con cuadril y garrón (cortes transversales) de corderos machos (5.5 meses) de la raza Romanov-Friesian, estos se envasaron al vacío en 2 lotes experimentales: 1) almacenados en refrigeración a 4°C. 2) congelados a -20°C durante 2 meses, tras los cuales se descongelaron de dos formas, (2a) descongelación lenta o (2b) descongelación rápida. Se evaluaron a 0, 1, 4 y 7 días desde el sacrificio (Lote 1) y cortes descongelados (2a y 2b) pH y parámetros de perfil de color CIELab (L^* , a^* y b^*). Se obtuvieron los valores de ΔE^* , C^* y ángulo hue y los valores de mioglobina superficial. Los resultados indicaron que el tiempo de maduración afectó el pH y el color en la carne de ovino. Los cambios de estado en la mioglobina, más relevantes ocurrieron según tipo de descongelación, ya que en la carne descongelada lentamente se identifica principalmente desoximioglobina (rojo púrpura) y en la descongelación lenta metamioglobina.

Palabras clave: Cordero, Refrigeración, Congelación, Calidad tecnológica.

INTRODUCCIÓN

La carne, alimento altamente perecedero debido a los cambios autolíticos y degradativos que ocurren en ella, debe conservarse para aumentar su vida útil. Los métodos más utilizados son la refrigeración y la congelación. Se han identificado modificaciones en la carne congelada, debido principalmente al efecto que tiene la velocidad de la congelación en la formación y tamaño de cristales de hielo, asimismo cambios en la estructura y reacciones bioquímicas durante el almacenamiento en congelación y posteriormente durante la descongelación (Genot, 2003). La congelación influye principalmente en la fracción de agua de la carne, contenida dentro y entre las fibras musculares. Al congelarse el agua, aumenta la concentración de los solutos restantes (proteínas, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas y minerales), afectando la homeostasis del sistema cárnico complejo, (Leygonie, *et al.*, 2012). Durante el almacenamiento en congelación existe la posibilidad de ocurrir crecimiento de los cristales, con una mayor cantidad de exudados producidos, durante la descongelación rápida respecto de la lenta. A pesar de no afectar de manera significativa el color de la carne descongelada, no se han encontrado estudios que relacionen las especies químicas de mioglobina, con el manejo en la congelación-descongelación de la carne. La percepción del color de la carne por los consumidores es fundamental en la decisión de compra. El pH y el color de la carne han sido relacionados con las condiciones de manejo antes, durante y posterior al sacrificio, para conocer y predecir cambios importantes que ocurren en ella, aunque en el caso de la carne ovina puede subestimarse calidad y frescura dada la falta de información (Martínez-Arellano, *et al.*, 2013). En este trabajo se valoró el efecto de las condiciones de almacenamiento de carne de ovino congelada-descongelada, envasada al vacío e almacenada en refrigeración, en el pH y las especies químicas de la mioglobina superficial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 5 corderos machos (5.5 meses) de la raza Romanov-Friesian de los que se obtuvieron carne de pierna con cuadril y garrón (cortes transversales) (INAC. Instituto Nacional de la Carne, 2004), envasados al vacío (envasadora Inauen modelo VC999 K2-K3). Lotes experimentales: 1) almacenados en refrigeración a 4°C y evaluados a 0, 1, 4 y 7 días desde el sacrificio y 2) congelados a -20°C durante 2 meses, tras los cuales se descongelaron de dos formas, (2a) descongelación lenta en refrigerador a 4°C durante 24h o (2b) descongelación rápida, sumergiendo cada muestra en 2L de agua a 25°C durante 30 min. El pH se midió con potenciómetro (Thermo Orión FiveStar, Mod. 9120APWP), con electrodo

Kniphe y cuchilla de punción. Los parámetros de perfil de color CIELab (L^* , a^* y b^* , ángulo hue, croma y ΔE^*) con espectrofotómetro Konica Minolta CM-600d, (λ de 400 a 700 nm), iluminante A, ángulo de visión de 10° y apertura de 8mm (American Meat Science Association, 2012). La correlación se ajustó a un modelo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$

Dónde: $Y = \text{pH}$, $X_1 = L^*$, $X_2 = a^*$, $X_3 = b^*$.

RESULTADOS

En la Figura 1 se aprecian las diferencias en reflectancia entre los tiempos de almacenamiento, en el tiempo 0, el envasado fue inmediato tras el sacrificio. La reflectancia de la carne se encontró entre 500 y 700 nm, notablemente menor que en las refrigeradas, éste comportamiento según AMSA (2012) indica una mayor presencia de desoximioglobina. Este envasado en caliente ayuda a controlar los cambios químicos de la mioglobina, conservándola en un estado químicamente estable. Las muestras de 1 y 4 días *post mortem* en refrigeración, mostraron un comportamiento de la reflexión de la luz sin diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$). A estos tiempos y condiciones de almacenamiento, no existen cambios sobre la superficie de las muestras y la mioglobina se encontró como oximioglobina (Bloom).

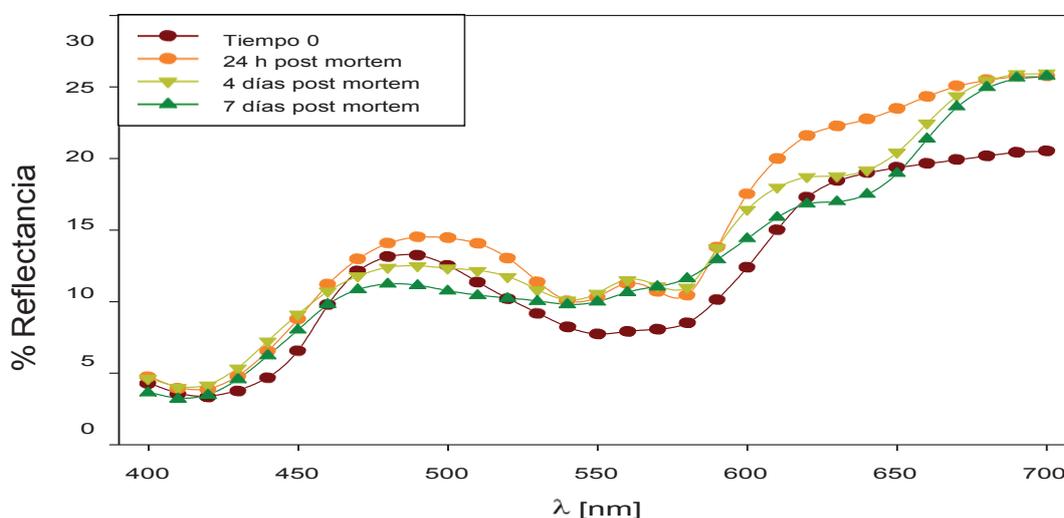


Figura 1. Parámetros de perfil de color en carne envasada al vacío, refrigerada a 4°C diferentes tiempo.

A los 7 días *post mortem*, según la curva de reflectancia la mioglobina ha pasado por un estado de oxidación y se transforma en metamioglobina, y esta modificación genera cambios en el color apreciado. Las muestras envasadas, sometidas a congelación lenta, almacenadas por 2 meses y posteriormente descongeladas bajo dos diferentes métodos, evidenciaron que el proceso de descongelación de la carne tiene influencia directa

sobre la reflexión de la luz, de este modo las muestras descongeladas (lentamente) en refrigeración, tuvieron mayor formación de exudados y un valor más alto de reflectancia, el comportamiento aparente del cambio en las pendientes entre los 550 y 600 nm, indican una mayor presencia de oximioglobina, por el contrario la descongelación rápida controlada, generó menor cantidad de líquidos exudados en la carne y menor valor de reflectancia (figura 2).

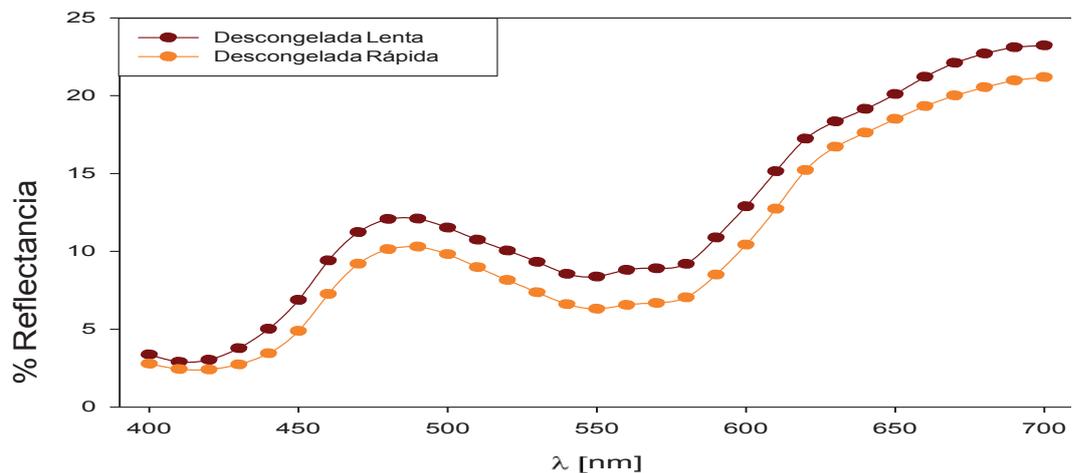


Figura 2. Reflectancia de muestras congeladas y descongeladas por 2 diferentes métodos (rápido y lento).

Los parámetros de perfil de color de las muestras envasadas y refrigeradas por diferentes tiempos. Luminosidad (L^*) y croma o saturación (C^*) tuvieron los valores más altos tras 24 h, comparados con 4 y 7 días *post mortem*. En todos los casos el ángulo hue ($^\circ$ hue) entre 35° y 50° y la tonalidad en los rojos, característicos de carne ovina. En la Figura 3 se muestran los parámetros de perfil de color de las muestras, tras someterse a congelación– descongelación controlada (método rápido y lento), donde la descongelación en refrigeración por 24 h, ocasiona valores más altos de luminosidad (L^*), lo que concuerda con los valores de reflectancia, corroborando así, que la mayor producción de exudados en la descongelación lenta hace que la luz reflecte en mayor proporción, modificando las coordenadas tri-estímulo. El $^\circ$ hue, obtenido, se encuentra entre los valores característicos de carne de ovino (30° a 50°) lo que indica que la tonalidad aparentemente no se modificó, al igual que el croma (C^*).

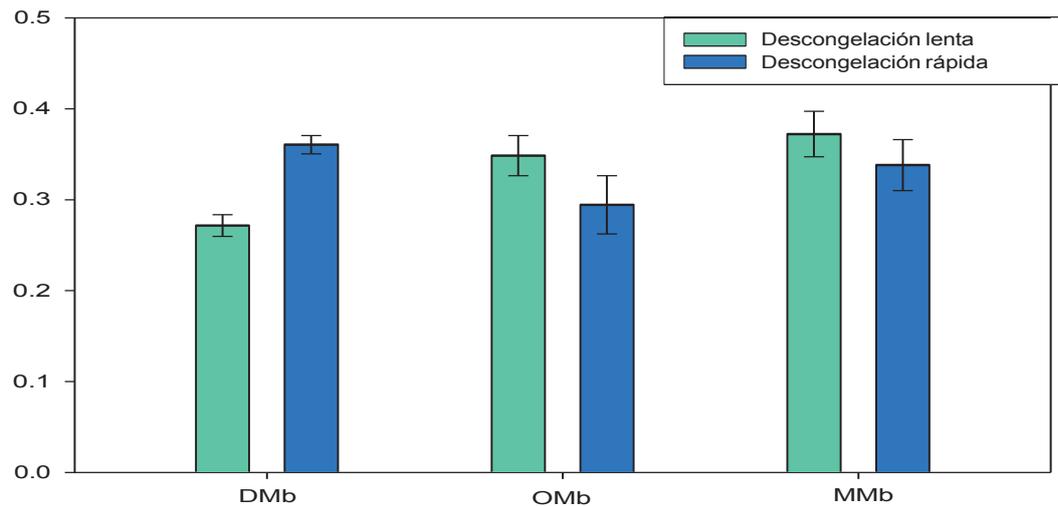


Figura 3. Fracciones de mioglobina superficial en las muestras congeladas-descongeladas.

La evaluación de los cambios químicos que ocurren en la superficie de las muestras sometidas a congelación-descongelación, según Tang *et al.* (2004) indican las fracciones de mioglobina superficial a partir de los valores de absorbancia (503, 525, 557 y 582 nm). Se presentan las tres formas químicas más comunes de mioglobina. En la descongelación lenta, la mayor parte fue metamioglobina. Durante descongelación rápida, se encontró mayor presencia de desoximioglobina respecto de las descongeladas lentamente.

CONCLUSIONES

El pH y los parámetros del perfil de color correlacionan. Los cambios no fueron significativos para las condiciones de almacenamiento en refrigeración y congelación empleados, excepto para b^* en donde los resultados fueron significativos, afectados por la congelación. El mejor método de descongelación, el lento, con menor producción de exudados.

AGRADECIMIENTOS

Proyectos DGAPA-PAPIIT IT202312, DGAPA-PAPIME PE305014.

BIBLIOGRAFÍA

- American Meat Science Association. (2012). Meat Color Measurement Guidelines. Illinois.
- Genot, C. (2003). Congelación y calidad de la carne. Zaragoza: Acribia. INAC.
- Instituto nacional de la carne. (2004). Manual de carne bovina y ovina. Montevideo.

- Jacob, R.H., & Thomson, K.L. (2012). The importance of chill rate when characterising colour change of lamb meat during retail display. *Meat science*(90), 478-484.
- Kim, G.D., Jung, E.Y., Lim, H.J., Yang, H., Joo, S., & Jeong, J.Y. (2013). Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork. *Meat Science*(95), 323-329.
- Leygonie, C., Britz, T.J., & Hoffman, L.C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat. *Meat Science*(91), 93-98.
- Martínez-Arellano, I., Severiano-Perez, P., Fernandez, J.F., & Ponce Alquicira, E. (2013). Changes in the physicochemical and sensory characteristics in raw and grilled ovine meat. *SCI* (93), 1743-1750.
- Tang, J., Faustman, C., Hoagland, T.A. (2004). Krzywicki revisited: equations for spectrophotometric determination of myoglobin redox forms in aqueous meat extracts. *Journal of Food Science* (69):9, C717-C720.

SURFACE MYOGLOBIN SHEEP MEAT STORED IN VACUUM FROZEN- THAWED

SUMMARY

To assess the effect of refrigerated and frozen storage of sheep meat cuts were used leg and chump garron male lambs (5.5 months) of Romanov-Friesian at 0, 1, 4 and 7 days of slaughter, packaged vacuum and stored under refrigeration at 4°C. A second batch was aged for one week at chamber at 4°C and after getting cuts vacuum packed, frozen and stored at -18°C for 2 months, after which they were thawed in refrigerator at 4°C for 24 or immersing each sample in water at 25°C for 30 min prior to their determinations of pH and color profile parameters ((CIELAB) L*, a* and b*). The results showed that the maturation time on refrigeration, affected the pH and color in sheep meat, changes in myoglobin. The most relevant by kind of thawing occurred, because the meat thawed slowly was identified mainly deoxymyoglobin (purple red) and slow thawing mainly metmyoglobin.

Key words: Lamb, refrigeration, freezing, technological quality.

CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO DE CABRITOS MURCIANO-GRANADINOS PUROS Y PROCEDENTES DEL CRUCE CON SEMENTALES ESPECIALIZADOS CÁRNICOS DE LA RAZA BOER

PÉREZ-BAENA, I.¹; JARQUE-DURÁN, M.¹; FRANCH-DASÍ, J.¹; FERNÁNDEZ, N.¹; RODRÍGUEZ, M.¹; GÓMEZ, E.A.²; MARTÍ, J.V.¹ y PERIS, C.^{1*}

¹Institut de Ciència i Tecnologia Animal, Universitat Politècnica de València. C/ Camí de Vera, s/n. 46022 (València).

²CITA-IVIA. Centro de Investigación y Tecnología Animal. Apdo. 187. 12400 Segorbe (Castellón).

*cperis@dca.upv.es

RESUMEN

Este estudio analiza las características de crecimiento de los cabritos Murciano-Granadinos puros (MG) en comparación con los procedentes del cruce entre cabras MG y sementales de la raza Boer (BO), hasta un peso vivo de 9 kg. Los cabritos fueron alimentados con un lactorreemplazante (LR) comercial de calidad (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.) y se sacrificaron con un peso de 9 kg o una edad máxima de 9 semanas de vida (lo que antes sucediera). Los cabritos cruzados presentaron, respecto a los MG, un mayor peso al nacimiento ($2,79 \pm 0,13$ kg *vs.* $2,18 \pm 0,13$ kg; $P < 0,01$), una mayor ganancia media diaria ($179,3 \pm 3,8$ g/d *vs.* $139,7 \pm 3,8$ g/d; $P < 0,001$), un menor índice de conversión ($1,16 \pm 0,03$ *vs.* $1,36 \pm 0,03$ kg materia seca LR/kg peso vivo; $P < 0,01$) y una menor edad para alcanzar el peso de sacrificio ($35,0 \pm 1,45$ *vs.* $50,2 \pm 1,45$ días). El cruzamiento de las hembras MG con sementales BO permitió reducir el consumo de reemplazante lácteo comercial en 2,2 kg por cabrito y el tiempo de lactancia en 15 días.

Palabras clave: Murciano-Granadina, Boer, cruzamiento, crecimiento.

INTRODUCCIÓN

En las principales especies explotadas en producción animal se realizan cruces entre razas o líneas genéticas con el objetivo de mejorar las características de crecimiento de los animales de abasto. Sin embargo, en las explotaciones españolas de caprino lechero no se suelen realizar cruzamientos de las razas autóctonas con otras razas cárnicas, a pesar de que la mejora genética que se está desarrollando por producción y calidad de la leche podría estar empeorando las características de crecimiento y de la canal de los cabritos.

La raza Murciano-Granadina (MG) es la de mayor censo entre las razas caprinas españolas de aptitud láctea. Los cabritos MG se comercializan entre 7 y 9 kg de peso vivo y suelen tener unas bajas velocidades de crecimiento (100-140 g/d). Por otra parte, de entre las razas caprinas especializadas en la producción de carne destaca la raza Boer (BO), considerada como una de las mejores razas de aptitud cárnica a nivel mundial, con velocidades de crecimiento en el período predestete propias del ovino (entre 208 y 291 g/d en lactancia natural; datos propios sin publicar). De hecho, se considera que el verdadero potencial de esta raza radica en que sus sementales sean utilizados en cruzamientos terminales con otras razas (Van Niekerk y Casey, 1988). Existen numerosos trabajos que encuentran mejoras significativas de crecimiento al realizar cruces de diferentes razas con machos BO (BO x British Saanen, Gibb *et al.*, 1993; BO x Alpina, Goonewardene *et al.*, 1998; BO x Angora y Spanish, Luo *et al.*, 2000; BO x Guanzhong, Ding *et al.*, 2010; BO x Kiko y Spanish, Browning *et al.*, 2012).

El objetivo de este trabajo es comparar el crecimiento e índice de conversión de la leche en polvo en cabritos procedentes del cruce entre cabras MG y sementales de la raza BO respecto al de los cabritos MG puros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo en la granja experimental de pequeños rumiantes del Institut de Ciència i Tecnologia Animal de la Universitat Politècnica de València. Se ha evaluado el peso al nacimiento (PN), crecimiento (Ganancia Media Diaria: GMD) e índice de conversión (IC) de la leche en polvo durante la lactancia artificial de cabritos MG puros (MGxMG; n=23; 11 machos y 12 hembras; 6 de parto simple y 17 de parto doble) y cabritos cruzados procedentes de sementales BO y cabras MG (BOxMG, n=23; 11 machos y 12 hembras; 6 de parto simple y 17 de parto doble). Los cabritos recién nacidos pasaron un período

de encalostrado y adaptación al sistema de lactancia artificial de 4 días. Se constituyeron grupos experimentales de dos y tres individuos, de peso similar, en función de la raza y el sexo y se alojaron en cubículos independientes (0,96 m²/cubículo). Durante el período experimental los animales fueron alimentados *ad libitum* con un lactorreemplazante (LR) de calidad (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.) ofrecido en 2 tomas diarias (9:00 y 18:00 horas) a una concentración de 170 g/l durante las 2 primeras semanas y 190 g/l desde la segunda semana hasta su sacrificio. Los cabritos se sacrificaron cuando alcanzaron los 9 kg de peso vivo, o bien cuando llegaron a las 9 semanas de vida (lo que antes sucediera). Diariamente (8:00 h) se registró el rehusado lácteo de cada cubículo y se determinó por duplicado su materia seca. Durante el periodo experimental se realizaron 2 controles semanales (martes y viernes) del peso de cada cabrito y, a partir de ellos, se estimó el peso y la GMD a cada semana de edad (7, 14, 21, 35, 42 y 48 días) y hasta el sacrificio. Además, para cada cabrito se estimó la edad (días) a la que alcanzó los 9 kg de peso vivo y la GMD global (desde nacimiento a 9 kg de peso vivo). Las variables de peso y GMD estimadas a cada semana de edad se analizaron estadísticamente con un modelo que contempló los efectos fijos de la raza, el sexo, la edad, sus interacciones dobles y el efecto aleatorio del animal. En el análisis estadístico de las variables edad estimada a 9 kg, GMD global e IC global se consideraron los efectos fijos de la raza, el sexo y su interacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de la raza y el sexo afectaron significativamente a todas las variables analizadas, mientras que su interacción no resultó significativa en ningún caso. En la Tabla 1 se muestra la evolución semanal, desde el nacimiento, del peso y GMD.

El peso al nacimiento (PN) fue un 28% superior ($P < 0,01$) en los BOxMG ($2,79 \pm 0,13$ kg) respecto a los MGxMG ($2,18 \pm 0,13$ kg). Este PN medio de los cabritos cruzados resultó inferior al obtenido por Goonerwardene *et al.*, (1998) en cabritos cruzados de BO con razas lecheras de mayor tamaño adulto que la raza MG como son: Spanish goat (3,48 kg de PN), Alpina (3,95 kg) y Saanen (4,09 kg). Los valores de PN obtenidos para los cabritos MG puros son inferiores a los publicados por otros autores ($2,44 \pm 0,14$ kg, Fuentes-García *et al.*, 1988; $2,7 \pm 0,3$ kg, Sanz, 2005). En la Tabla 1 también se observa que los cabritos cruzados presentaron, respecto a los Murciano-Granadinos puros, pesos superiores en todas las semanas de edad ($P < 0,001$).

Tabla 1. Evolución semanal del peso y ganancia media diaria (media± ES) de cabritos Murciano-Granadinos puros (MGxMG) y cabritos procedentes de hembras Murciano-Granadinas cruzadas con machos Boer (BOxMG).

	Peso (kg)			GMD5 (g/día)		
	BO2 x MG3	MG x MG	Niv. Sig. ⁴	BO x MG	MG x MG	Niv. Sig.
PN1	2,79 ± 0,13	2,18 ± 0,13	**	-	-	-
7 días	3,59 ± 0,13	2,81 ± 0,13	***	115,3 ± 7,5	89,7 ± 7,5	*
14 días	4,81 ± 0,13	3,71 ± 0,13	***	173,3 ± 7,5	128,3 ± 7,5	***
21 días	6,17 ± 0,13	4,65 ± 0,13	***	194,7 ± 7,5	134,2 ± 7,5	***
28 días	7,67 ± 0,14	5,68 ± 0,13	***	217,5 ± 7,7	147,7 ± 7,5	***
35 días	8,97 ± 0,15	6,75 ± 0,13	***	199,6 ± 9,2	152,8 ± 7,5	**
42 días	-	7,64 ± 0,14	-	-	157,2 ± 8,8	-
49 días	-	8,67 ± 0,16	-	-	185,9 ± 11,5	-

¹ PN: Peso al nacimiento.

² BO: Raza Boer.

³ MG: Raza Murciano-Granadina.

⁴ Niv. Sig.: Nivel de significación estadística, ns: no significativo ($P > 0,05$); * ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$).

⁵ GMD: Ganancia media diaria.

La GMD también fue mayor en los cabritos BOxMG en todas las semanas de edad consideradas (Tabla 1). El valor medio de GMD desde el nacimiento hasta el sacrificio fue superior ($P < 0,001$) en los cabritos BOxMG ($179,3 \pm 3,8$ g/d) que en los de MGxMG ($139,7 \pm 3,8$ g/d). Estos últimos resultados son del mismo orden a los obtenidos por Sanz (2005) en cabritos MG puros criados también en lactancia artificial (123 g/día). Sin embargo, el crecimiento de los cabritos cruzados fue superior al obtenido por Goonerwardene *et al.*, (1998) en cruces BOxSpanish Goat (119 g/d), BOxAlpina (146 g/d) y BOxSaanen (127 g/d).

Dado que los cabritos BOxMG presentaron mayor PN y GMD, la edad media con la que alcanzaron los 9 Kg de peso vivo fue inferior a la de los cabritos MGxMG ($35,0 \pm 1,45$ vs $50,2 \pm 1,45$ días; $P < 0,001$). Por tanto, el periodo de lactancia artificial disminuyó en 15,2 días de media. Como era de esperar, el IC fue menor ($P < 0,01$) en los cabritos BOxMG ($1,16 \pm 0,02$ kg de materia seca de LR/kg de peso vivo) que en los MGxMG ($1,36 \pm 0,03$). El consumo de leche en polvo comercial desde el nacimiento a 9 kg de peso vivo se redujo en 2,2 kg/animal en los cabritos cruzados respecto a los cabritos Murciano-Granadinos puros.

El hecho de que en este estudio se hayan observado mejoras relevantes en las características de crecimiento (PN, GMD e IC) de los cabritos cruzados (cabras Murciano-Granadina x machos cárnicos de raza

Boer), respecto a los cabritos Murciano-Granadinos puros, sugiere que podría ser económicamente interesante para los ganaderos realizar este cruzamiento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA (RTA2013-00107-C03-02). Los autores quieren agradecer a D. José María Bello Drona (Nanta España S.A.) su colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

- Browning, R. Jr., Phelps, O., Chisley, C., Getz, W.R., Hollis, T., Leite-Browning, M.L. 2012. Carcass yield traits of kids from a complete diallel of Boer, Kiko and Spanish meat goat breeds semi-intensively managed on humid subtropical pasture. *Journal of Animal Science*, 90: 709-722.
- Ding, W., Kou, L., Cao, B., Wei, Y. 2010. Meat quality parameters of descendants by grading hybridization of Boer goat and Guanzhong Dairy goat. *Meat Science*, 84: 323-328.
- Fuentes, F., Gonzalo, C., Herrera, M., Escobar, S., Quiles, A. 1988. Crecimiento en cabritos de raza murciana granadina. *Archivos de zootecnia*, 37(138):155.
- Gibb, M.J., Cook, J.E., Treacher, T.T. 1993. Performance of British Saanen, Boer x British Saanen and Anglo-Nubian castrated male kids from 8 weeks to slaughter at 28, 33 or 38 kg live weight. *Animal Production*, 57: 263-271.
- Luo, J., Sahl, T., Cameron, M., Goetsch, A.L. 2000. Growth of Spanish, Boer x Angora and Boer x Spanish goat kids fed milk replacer. *Small Ruminant Research*, 36: 189-194.
- Premasundeba, A.S., Ravindran, V., De Silva, G.P.L., Jeyalingavatkani, S. 1998. Crossbreeding Trials with Boer Goats in Sri Lanka: Effects on the Birth Weights of Kids. *Der Tropenlandwirt, Beitrage zur tropischen Landwirtschaft und veterinarmedizin*. 99. Jahrgang. S. 43-48.
- Sanz, B. 2005. Tipo de alimentación, modo de encastrar y estacionalidad de la paridera como factores condicionantes del crecimiento de los cabritos lechales de la raza Luciano-granadina. XXX Jornadas Científicas y IX Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. P. 236-238.
- Van Niekerk, W.A., Casey, N.H. 1988. The Boer Goat. II. Growth, Nutrient Requirements, Carcass and Meat quality. *Small Ruminant Research* 1(4): 355- 368.

GROWTH TRAITS OF MURCIANO-GRANADINA PUREBRED KIDS AND BOER X MURCIANO-GRANADINA CROSSBRED KIDS.

ABSTRACT

This study analyses growth traits in Murciano-Granadina (MG) purebred kids comparing with MG x Boer (BO) crossbred kids until they reach a 9 kg live weight. Kids were fed with a commercial milk replacer (LR) (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.) and were slaughtered at 9 kg or when they were 9 weeks old. Crossbred kids showed higher birth weight ($2,79 \pm 0,13$ kg *vs.* $2,18 \pm 0,13$ kg), higher average daily gain ($179,3 \pm 3,8$ g/d *vs.* $139,7 \pm 3,8$ g/d), lower feed conversion ratio ($1,16 \pm 0,03$ *vs.* $1,36 \pm 0,03$ kg LR/kg live weight) and lower age at the slaughter weight ($35,0 \pm 1,45$ *vs.* $50,2 \pm 1,45$ days). Crossbreeding Murciano-Granadina goats with Boer bucks allowed reducing LR intake (2,2 kg/goat kid) and lactation period (15 days).

Key words: Murciano-Granadina, Boer, crossbreeding, growth traits.

CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CABRITOS MURCIANO-GRANADINOS PUROS Y PROCEDENTES DEL CRUCE CON SEMENTALES ESPECIALIZADOS CÁRNICOS DE LA RAZA BOER

PÉREZ-BAENA, I.¹; JARQUE-DURÁN, M.¹; FRANCH-DASÍ, J.¹; FERNÁNDEZ, N.¹; RODRÍGUEZ, M.¹; GÓMEZ, E.A.²; PALOMARES, J.L.¹ y PERIS, C.^{1*}

¹Institut de Ciència i Tecnologia Animal, Universitat Politècnica de València. C/ Camí de Vera, s/n. 46022 (València).

²CITA-IVIA. Centro de Investigación y Tecnología Animal. Apdo. 187. 12400 Segorbe (Castellón).

*cperis@dca.upv.es

RESUMEN

Se ha comparado el rendimiento a la canal y el despiece en 19 cabritos Murciano-Granadinos puros (11 machos y 8 hembras) y 23 cabritos cruzados, de padre Boer y madre Murciano-Granadina (11 machos y 12 hembras). Los animales se sacrificaron con 9 kg de peso vivo o cuando llegaron a las 9 semanas de edad (lo que antes sucediera). El rendimiento a la canal (caliente y fría) no difirió significativamente entre los cabritos cruzados y Murciano-Granadinos puros. Sin embargo, los cabritos Boer×Murciano-Granadina tuvieron un despiece más favorable, al obtenerse un porcentaje superior de piezas de mayor valor económico.

Palabras clave: Murciano-Granadina, Boer, cruzamientos, características canal.

INTRODUCCIÓN

La raza Murciano-Granadina (MG) es la de mayor censo entre las razas caprinas españolas de aptitud láctea. Sus cabritos suelen tener bajas velocidades de crecimiento (100-140 g/d) y se sacrifican con un peso vivo entre 7 y 9 kg, obteniéndose canales de 4-4,5 kg (sin incluir la cabeza y vísceras rojas). El despiece de las canales suele realizarse, a nivel experimental, según la metodología propuesta por Colomer-Rocher *et al.* (1987), distinguiendo tres categorías comerciales: Categoría I

o extra: pierna y costillar; Categoría II o primera: paletilla o espalda; Categoría II o segunda: bajos y cuello.

La mejora genética que se está desarrollando en esta raza, por producción y calidad de la leche, podría estar empeorando las características de crecimiento y de la canal de los cabritos. Por este motivo, para mejorar estos índices técnicos, podría ser interesante realizar cruzamientos de hembras de esta raza (cuyas crías no vayan a ser destinadas a futuras reproductoras) con machos de razas cárnicas, tal y como se realiza en otras especies. Una de las principales razas caprinas de aptitud cárnica que existen en el mundo es la raza Boer (BO), cuyos sementales han sido utilizados en cruzamientos terminales con otras razas. Dado que Perez-Baena *et al.* (2015) obtuvieron mejoras en el crecimiento de los cabritos cruzados BO×MG, respecto a los MG puros, el objetivo de este trabajo es estudiar en ambos grupos de cabritos el rendimiento a la canal y el despiece de la misma.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo en las instalaciones del Institut de Ciència i Tecnologia Animal de la Universitat Politècnica de València. Se han evaluado las características de la canal de 23 cabritos MG puros (MG×MG; 11 machos y 12 hembras) y 23 cabritos cruzados procedentes de sementales BO y cabras MG (BO×MG, 11 machos y 12 hembras). Durante el período experimental los animales fueron alimentados *ad libitum* con un lactorremplazante (LR) de calidad (Nantamilk Supreme, Nanta España S.A.). Los cabritos se sacrificaron cuando alcanzaron los 9 kg de peso vivo, o bien cuando llegaron a las 9 semanas de vida (lo que antes sucediera). Tras un periodo de ayuno de 12 horas, los cabritos fueron pesados. A continuación recibieron un aturdimiento eléctrico limitado a la cabeza (1,00 A) e inmediatamente fueron desangrados tras el corte de las arterias carótidas y venas yugulares, siguiendo lo estipulado en el Reglamento (CE) N°1099/2009. La canal se definió de acuerdo a Colomer-Rocher *et al.* (1987) y no incluyó la cabeza ni la asadura (pulmones, corazón, hígado y bazo). Se registraron los siguientes pesos: cuerpo desangrado, piel, patas, aparato digestivo, asadura, cabeza y peso de la canal caliente (PCC); además también se determinó el pH de la canal tras el sacrificio y transcurridos 45 minutos (Garrido *et al.*, 2005). Posteriormente las canales fueron refrigeradas (3,5°C) durante 24h registrándose a continuación el peso de la canal fría (PCF) y nuevamente el pH. El despiece de las canales se realizó siguiendo la metodología propuesta por Colomer-Rocher *et al.* (1987). En el análisis de los resultados no fueron considerados los datos de 4 hembras MG×MG, debido a que en el momento del sacrificio (9 semanas de vida)

tenían un peso vivo inferior a 8 kg. Todas las variables registradas fueron analizadas estadísticamente con un modelo que contempló los efectos fijos de la raza, el sexo y su interacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los variables registradas en el proceso de obtención de la canal de los cabritos. El peso vivo, peso del cuerpo desangrado, peso de la canal caliente (PCC) y fría (PCF), y el rendimiento de la canal caliente (RCC) y fría (RCF) no difirieron significativamente según la raza ni el sexo. Los valores de RCF (51%) coinciden con los obtenidos por Zurita-Herrera *et al.* (2011) en cabritos MG criados en lactancia artificial y sacrificados con 7 kg de peso vivo. También se calculó el RCF considerando la canal comercial (incluyendo cabeza y asadura) obteniéndose valores que no difirieron significativamente entre razas (BO×MG: 61,9±0,4; MG×MG: 61,6 ± 0,4) ni entre sexos. Estos valores son ligeramente inferiores al rendimiento del 64,8% obtenido por Panea *et al.* (2012) en cabritos MG de unos 7 kg de peso vivo. Del resto de variables registradas para obtener la canal, la raza solo afectó significativamente al peso de la piel (P<0,01) y de las patas (P<0,001), siendo ambos más elevados en los cabritos BO×MG. Respecto al sexo, los machos presentaron un mayor peso de la cabeza (P<0,01) y de las patas (P<0,001) que las hembras. La interacción raza×sexo no fue significativa en ninguna de las variables que se muestran en la Tabla 1. El pH de la carne en el momento de sacrificio, a 45 minutos y a 24 horas *post mortem* no se vieron afectados significativamente por la raza, el sexo ni la interacción raza×sexo.

En la Tabla 2 se han recogido las variables obtenidas en la disección de la media canal izquierda. Las canales de los cabritos BO×MG tuvieron un mayor peso del costillar (P<0,01) y menor peso de los bajos (P<0,001), del cuello (P<0,01) y del riñón (P<0,001) respecto a los cabritos MG×MG. El peso de las otras partes de la canal (grasa perirrenal, paletilla y pierna) fue similar en ambas razas. No obstante, cuando las piezas de la canal se agruparon por categorías, expresándose en porcentaje del peso de la canal, se observó que las piezas de mayor calidad (Categorías I y II) fueron superiores en los cabritos cruzados respecto a los cabritos MG puros (P<0,001 y P<0,05, respectivamente). Respecto al sexo, los cabritos macho tuvieron menor grasa perirrenal (P<0,001), menor peso de bajos (P<0,05) y mayor peso del cuello (P<0,01) que las hembras. La distribución de las categorías comerciales (CAT I, II y III) no difirió significativamente entre los dos sexos. La interacción raza×sexo no afectó a ninguna de las variables de la Tabla 2.

Tabla 1. Peso vivo al sacrificio, rendimiento a la canal y peso de componentes que no forman parte de la canal (media±ES) en cabritos según raza y sexo.

	Raza			Sexo		
	BO ¹ xMG ²	MGxMG	Niv. Sig. ³	Machos	Hembras	Niv. Sig.
Peso Vivo (g)	9442±123	9446±126	ns	9479±115	9409±123	ns
Peso Desangrado (g)	8971±106	8963±118	ns	8965±108	8969±116	ns
Peso Piel (g)	1128±16	1053±18	**	1103±16	1077±17	ns
Peso Patas (g)	410±5	361±5	***	407±5	364±6	***
Peso Ap. Digest. (g)	1303±49	1400±55	ns	1287±50	1417±54	ns
Peso Asadura (g)	564±12	565±13	ns	574±12	555±13	ns
Peso Cabeza (g)	465±5	465±5	ns	475±5	455±5	**
PCC ⁴ (g)	4944±62	4952±69	ns	4960±63	4936±67	ns
PCF ⁵ (g)	4812±55	4789±61	ns	4800±56	4800±60	ns
RCC ⁶ (%)	52,4±0,4	52,5±0,4	ns	52,3±0,4	52,5±0,4	ns
RCF ⁷ (%)	51,0±0,4	50,7±0,4	ns	50,7±0,4	51,1±0,4	ns

¹BO: Raza Boer; ²MG: Raza Murciano-Granadina; ³Niv. Sig.: Nivel de significación estadística, ns: no significativo (P>0,05); * (P<0,05); ** (P<0,01); *** (P<0,001). ⁴PCC: Peso canal caliente; ⁵PCF: Peso canal fría; ⁶RCC: Rendimiento canal caliente; ⁷RCF: Rendimiento canal fría.

Tabla 2. Variables del despiece de la canal (media± ES) en cabritos según raza y sexo.

	Raza			Sexo		
	BO ¹ xMG ²	MGxMG	Niv. Sig. ³	Machos	Hembras	Niv. Sig.
Peso Canal izquierda (g)	2402±28	2424±32	ns	2404±29	2422±31	ns
Peso Riñón izquierdo (g)	27±1	30±1	***	30±1	27±1	**
Peso Grasa perirrenal izq.(g)	100±5	104±6	ns	86±5	117±5	***
Peso Paletilla (g)	520±7	507±8	ns	520±7	507±8	ns
Peso Pierna (g)	809±10	800±11	ns	802±10	807±11	ns
Peso Costillar (g)	629±11	579±13	**	612±12	596±13	ns
Peso Bajos (g)	166±7	221±8	***	181±7	206±7	*
Peso Cuello (g)	127±4	144±4	**	143±4	128±4	**
CAT. I ⁴ (%)	59,9±0,4	56,9±0,4	***	58,9±0,4	57,9±0,4	ns
CAT. II ⁵ (%)	21,7±0,2	20,9±0,3	*	21,7±0,2	21,0±0,3	ns
CAT.III ⁶ (%)	12,2±0,3	15,1±0,3	***	13,4±0,3	13,8±0,3	ns

¹BO: Raza Boer; ²MG: Raza Murciano-Granadina; ³Niv. Sig.: Nivel de significación estadística, ns: no significativo (P>0,05); * (P<0,05); ** (P<0,01); *** (P<0,001); ⁴CAT. I: Categoría I (Σ costillar y pierna); ⁵ CAT. II: Categoría 2 (paletilla); ⁶ CAT. III: Categoría 3 (Σ bajos y cuello)

Los resultados de este trabajo, unidos las mejoras de crecimiento observadas anteriormente (Perez-Baena *et al.*, 2015), corroboran la utilización del cruce de cabras Murciano-Granadina con machos Boer, dado que los cabritos cruzados presentan similar rendimiento a la canal y un superior porcentaje de piezas de mayor valor económico.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el INIA (RTA2013-00107). Los autores quieren agradecer a D. José María Bello Drona (Nanta España S.A.) su colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., Kirton, A.H. 1987. Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livestock Production Science*, 17: 149-159.
- Garrido, M.D., Bañón, S., Álvarez, D. 2005. Medida del pH. *En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. Coord. Cañeque, V., Sañudo, C. Monografías INIA N°3: 206-215.
- Panea, B., Ripoll, G., Horcada, A., Sañudo, C., Teixeira, A., Alcalde, M.J. 2012. Influence of breed, milk diet and slaughter weight on carcass traits of suckling kids from seven spanish breeds. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10(4): 1025-1036.
- Perez-Baena, I., Jarque-Duràn, M., Franch-Dasí, J., Fernández, N., Ródriguez, M., Gómez, E.A., Martí, J.V., Peris, C. 2015. Características de crecimiento de cabritos murciano-granadinos puros y procedentes del cruce con sementales especializados cárnicos de la raza BOER. XL Congreso de la SEOC. Castellón.
- Zurita-Herrera, P., Delgado, J.V., Argüello, A., Camacho, M.E., Germano, R. 2011. Effects of extensive system versus semi-intensive and intensive systems on growth and carcass quality of dairy kids. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(11), 2613-2620.

CARCASS CHARACTERISTICS OF MURCIANO-GRANADINA PUREBRED KIDS AND BOER × MURCIANO-GRANADINA CROSSBRED KIDS

ABSTRACT

This study analyses carcass yields and jointing in 19 Murciano-Granadina (MG) purebred kids (11 males and 8 females) comparing with 23 MG×Boer (BO) crossbred kids (11 males and 12 females). Animals were slaughtered at 9 kg live weight or when they were 9 weeks old. Hot and cold carcass yields didn't differ significantly between crossbred and purebred kids. Nevertheless, MG×BO kids presented better jointing due to the fact that they had a greater percentage of higher economic value pieces.

Key words: Murciano-Granadina, Boer, crossbreeding, carcass.



SEOC 2015

CALIDAD DE LECHE



QUESO CASTELLANO. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA, INSTRUMENTAL Y SENSORIAL DE LOS QUESOS DE LECHE PASTERIZADA DE OVEJA. I PARTE: CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA

RODRÍGUEZ, L.A.*; ASENSIO, C.; DELGADO, D. y GREDILLA, A.E.

Estación Tecnológica de la Leche. Instituto Tecnológico Agrario
Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y
Ganadería. Junta de Castilla y León. Ctra. Autilla s/n. 34071 Palencia.

*rodruilu@itacyl.es

RESUMEN

El presente estudio pretende completar la caracterización que se realizó del *Queso Castellano* de leche cruda en la Comunidad de Castilla y León (Rodríguez L.A. *et al.*, 2013, 2014). En este caso se optó por trabajar únicamente con quesos elaborados con leche de oveja pasteurizada. Se pretende estudiar las características físico-químicas de los quesos de pasta prensada de leche de oveja pasteurizada elaborados en Castilla y León, que justifique la posible creación de la IGP QUESO CASTELLANO por parte de sus promotores (FECYL: Federación Castellano Leonesa de Industrias Lácteas). Este estudio se centra en los quesos de leche pasteurizada de pasta prensada, de coagulación enzimática, con 6-9 meses de maduración y producidos en la región. Para este proyecto se utilizaron un total de 10 quesos procedentes de 5 queserías (2 quesos de cada una) distribuidas en las provincias de Castilla y León. En general son quesos de elevado extracto seco (69,42%), grasos (54,21% grasa/ES) y ligeramente salados (1,92% de NaCl).

Palabras clave: leche pasteurizada de oveja, queso Castellano, caracterización físico-química.

INTRODUCCIÓN

Referencias concretas al Queso Castellano aparecen sobre todo en la edad moderna, y es a partir del año 1982 donde ya existen verdaderos

tratados de quesería. En concreto de los quesos españoles y del “*Queso Castellano*” existe un estudio titulado “Quesos Españoles. Tablas de composición, valor nutritivo y estabilidad” (Marcos et al, 1985) donde diversos autores del Departamento de Tecnología y Bioquímica de los Alimentos de la Universidad da Cordoba desarrollaron durante los años 1982-1985 un proyecto financiado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, que deja constancia clara y de forma admirable del “*Queso Castellano*”, aportando una información valiosísima en relación a su composición, valor nutritivo y métodos de análisis más característicos.

Otros autores como Cenzano (1992) describen al Queso Castellano como un queso “elaborado con leche de oveja en toda la comunidad de Castilla y León” y ya en la actualidad, en el Catálogo Electrónico de Quesos de España (MAGRAMA, 2013) se recogen las características físico-químicas del *Queso Castellano* (pH, 5,3; E.S., 64%; Grasa/ES, 53% y cloruro sódico, 2%) sin diferenciar si los quesos proceden de leche de oveja cruda o pasteurizada.

El objetivo de este trabajo es la caracterización físicoquímica del Queso Castellano de leche pasteurizada de oveja procedente de varias queserías de Castilla y León y con una maduración de entre 6-9 meses.

MATERIAL Y MÉTODOS

Quesos

se utilizaron 10 quesos procedentes de 5 queserías, que fueron suministrados por la Promotora de la Marca de Calidad (MC) *Queso Castellano*, a través de la Federación Castellano Leonesa de Industrias Lácteas. Cada quesería aportó dos piezas enteras de queso, que pesaron entre 2 y 3 Kg. de peso elaboradas con leche pasteurizada de oveja y con un periodo de maduración entre 6-9 meses. Las queserías estaban distribuidas en las provincias de León (2 fabricantes), Palencia (1 fabricante), Valladolid (1 fabricante) y Zamora (1 fabricantes). Pertenecen a la marca colectiva de calidad Queso Castellano y están elaborados con leche de diversas razas ovejeras (Churra, Castellana y Assaf principalmente, así como sus cruces) adaptadas al ecosistema de Castilla y León.

En todos los casos: uno de los quesos de cada quesería se utilizó para el análisis físico-químico general, los ácidos grasos libres, los compuestos volátiles y el análisis de imagen. El segundo queso se utilizó para el análisis sensorial y de textura.

Análisis físico-químicos

Se determinó el extracto seco, la materia grasa, la proteína, el cloruro de sodio y el pH de los quesos en el laboratorio de físico-química de la Estación Tecnológica de la Leche

- **Determinación del pH:** se llevó a cabo mediante un pH-metro, con un electrodo de punción con corrección de la temperatura Crison (Barcelona, España).
- **Determinación de extracto seco:** la determinación del extracto seco del queso se realizó por gravimetría según ISO 5534:2004.
- **Determinación de la proteína:** se realizó según ISO 8968-1:2014, cuantificando el nitrógeno total por el método Kjeldahl. El porcentaje de proteína se obtuvo por la siguiente expresión: % Proteína = % Nitrógeno Total x 6,38.
- **Determinación de la materia grasa:** se realizó por gravimetría según ISO 1735:2004.
- **Determinación de cloruros:** se realizó mediante valoración potenciométrica según ISO 5943:2006, llevada a cabo con un titulador potenciométrico TITRINO PLUS 877 con un electrodo de anillo de plata combinado, METROHM (Herisau, Suiza).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de las características físico-químicas estudiadas (extracto seco, % proteína, % proteína sobre extracto seco, % grasa, % grasa sobre extracto seco, % cloruro de sodio, % cloruro de sodio sobre extracto seco y pH) junto a su desviación estándar y a sus y los valores máximos, mínimos y Coeficiente de Variación se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores medios (% p/p), desviación estándar y valores mínimos y máximos de las características físico-químicas estudiadas en el grupo de *Quesos Castellanos* de leche pasterizada.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	CV
ES (extracto seco)	69,42	1,64	66,60	71,07	2,73
Proteína	24,87	0,79	23,29	25,86	3,77
Proteína/ES	35,81	0,42	34,97	36,41	1,37
Grasa	37,63	0,83	36,44	38,67	2,49
Grasa/ES	54,21	0,29	53,92	54,77	0,62
NaCl	1,92	0,13	1,78	2,16	7,43
NaCl/ES	6,33	0,67	5,46	7,25	11,79
pH	5,22	0,07	5,14	5,33	1,37

El contenido en ES presentó un valor medio de 69,42%, con un rango de variación entre 66,60 y 71,07%. En estudios previos también se obtuvieron resultados similares, con valores de 67,25%, 69,60% y 69,78% (Gaya *et al.*, 2003; Marcos *et al.*, 1985 y Román-Blanco *et al.*, 1999, respectivamente). Sin embargo, en el catálogo electrónico de quesos de España (MAGRAMA, 2013), el Queso Castellano presenta un valor medio de ES (64%) más bajo.

Para la grasa/ES nuestros resultados presentaron un valor medio de 54,21% y un rango de variación entre 53,92 y 54,77%. Otros trabajos presentan valores de 53,43% y 53,60% (Marcos *et al.*, 1985 y MAGRAMA, 2013, respectivamente) que están dentro del rango observado.

Los valores de proteína/ES encontrados en los Quesos Castellanos analizados presentaron un valor medio de 35,81% y un rango de variación de 34,97 a 36,41%, similar a los resultados obtenidos por Román-Blanco *et al.* (1999), cuyo valor medio fue de 35,62%.

El contenido de NaCl en los quesos presentó un valor medio de 1,92 g/100g de queso y un rango de 1,78% a 2,16%. Esta concentración es similar a la que aparece en MAGRAMA (2013) con un 2% y a la obtenida por Marcos *et al.* (1985), con un valor medio de 2,03%, aunque estos autores comprobaron un rango de variación entre 0,89 y 3,30%. Sin embargo, Román-Blanco *et al.* (1999) observaron mayores niveles de NaCl/ES en los Quesos Castellanos con un rango de variación entre 2,37 y 7,14% NaCl.

Los valores de pH encontrados presentaron un valor medio de 5,22 con un rango de variación desde 5,14 a 5,33. Resultados son similares fueron obtenidos por Marcos *et al.* (1985) y MAGRAMA, 2013), con valores de 5,23 y 5,30, respectivamente. Otros autores, como Gómez *et al.* (1991) y Gaya *et al.* (2003) encontraron valores más altos, de 5,50 y 5,42, respectivamente. En la bibliografía se comprueba un amplio rango de variación de pH en el queso Castellano, que va desde 4,48 a 5,73 (Marcos *et al.*, 1985 y Román-Blanco *et al.*, 1999)-

La variabilidad observada en los parámetros físico-químicos de este queso ha sido atribuida a la falta de estandarización de la leche y/o a la diversidad de condiciones de procesado de dicha leche o al diferente tiempo de maduración (Román-Blanco *et al.*, 1999).

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista físico-químico el Queso Castellano, fabricado a partir de leche pasteurizada de oveja y con 6-9 meses de maduración, se

caracteriza por su elevado extracto seco (69,42%), por ser un queso graso (54,21% grasa/ES), de alto contenido en proteína (35,81% proteína/ES), ligeramente salado (1,92% de NaCl) y con un pH ligeramente ácido (5,22).

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) y por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León) (Proyecto 2013-000369).

BIBLIOGRAFÍA

- Cenzano, I (1992). Capítulo tercero: Los Quesos de España. En: *Los quesos*. Editorial Mundi-Prensa Libros, S.A. pp. 74-75. Madrid (España).
- CODEX STAN 283-1978 (1978). Norma general del Codex para el queso. Denominación del queso según sus características de consistencia y maduración. pp 4.
- Gaya, P., Fernández-García, E., Medina, M., Nuñez, M. (2003). Seasonal variation in microbiological, chemical, textural and sensory characteristics during ripening of raw ewes milk Castellano cheese. *Milchwissenschaft* 58 (7/8): 376-379.
- Gomez, R., Carmona, M.A. y Fernández-Salguero, J (1991). Estudio de los alimentos de humedad intermedia españoles. I. actividad del agua y pH. II Jornadas Científicas sobre Alimentación Española. pp 125-130. Granada (España).
- ISO 5534:2004 Queso y queso fundido. Determinación del contenido total de materia seca (Método de referencia).
- ISO 1735:2004 Queso y queso fundido. Determinación del contenido en materia grasa. Método gravimétrico (Método de referencia).
- Marcos, A., Fernández-Salguero, J., Esteban, M.A., Leon, F., Alcalá, M., Beltran de Heredia, F.H. (1985). *Quesos Españoles. Tablas de composición, valor nutritivo y estabilidad*. Edita: Servicio de Publicaciones de la universidad de Córdoba. Córdoba (España).
- MAGRAMA (2013). Catalogo electrónico de quesos de España. Queso Castellano. Disponible desde internet: http://www.alimentacion.es/es/conoce_lo_que_comes/bloc/queso/default/fichas-de-quesos/queso-castellano/default.aspx [consulta: diciembre 2013].
- Rodríguez, L.A. (2013). Análisis de la rentabilidad de las explotaciones de ovino de leche en Castilla y León. Tesis doctoral. Universidad de León. León (España).
- Rodríguez, L.A., Asensio, C., Delgado, D. (2013). Queso Castellano. Descripción bibliográfica e histórica de un gran queso. XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. pp. 406-413. Málaga (España).
- Roman-Blanco, C., Santos-Buelga, J., Moreno-García, B., García-López, M. (1999). Composition and microbiology of Castellano cheese (Spanish hard cheese variety made from ewe's milk). *Milchwissenschaft* 54 (5): 255-257.

CASTELLANO CHEESE: CHARACTERIZATION OF PASTEURIZED MILK CHEESES SHEEP. PART I: PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION

SUMMARY

This study aims to complete the characterization was performed Castilian Cheese of raw milk in the Community of Castile and León (Rodríguez LA et al, 2013, 2014). In this case we chose to work only with cheese made from pasteurized sheep's milk. We intend to study the physico-chemical pressed cheeses milk pasteurized sheep produced in Castile and León características justifies the possible creation of the IGP CHEESE CASTILIAN by their promoters (FECYL: Castilian Federation Leon Dairy Industries) . This study focuses on pasteurized milk cheeses pressed paste, enzymatic coagulation, with 6-9 months of maturation and produced in the region. For this project a total of 10 cheeses from five dairies (2 cheeses each) distributed in the provinces of Castilla and Leon were also used. Overall cheeses are high dry matter (69.42%), fat (54.21% fat / ES) and slightly salty (1.92% NaCl).

Key words: Pasteurized sheep's milk, cheese Castellano, physico-chemical, characterization.

QUESO CASTELLANO. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA, INSTRUMENTAL Y SENSORIAL DE LOS QUESOS DE LECHE CRUDA DE OVEJA. II PARTE: CARACTERIZACIÓN INSTRUMENTAL (COLOR Y ANÁLISIS DE IMAGEN)

RODRÍGUEZ, L.A.*, ASENSIO, C. y DELGADO, D.

Estación Tecnológica de la Leche. Instituto Tecnológico Agrario
Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y
Ganadería. Junta de Castilla y León. Ctra. Autilla s/n. 34071 Palencia.

*rodruilu@itacyl.es

RESUMEN

En este trabajo se realiza un estudio del color y análisis de imagen del *Queso Castellano* procedente de leche pasteurizada. Para ello se han utilizado 10 quesos procedentes de 5 queserías distribuidas en diferentes provincias de la Comunidad de Castilla y León. Los Quesos Castellanos fueron fabricados a partir de leche pasteurizada de oveja y madurados entre 6-9 meses. Todos ellos presentaron una luminosidad (L^*) alta, con ligera tonalidad verde (a^*) y amarillo débil (b^*), aunque se observa una rango de variación medio-alto en este parámetro. En relación al análisis de imagen, estos quesos presentan pocos poros o agujeros, que son de tamaño variable, aunque de diámetro medio pequeño; están distribuidos de forma irregular y tienen un origen mecánico fundamentalmente.

Palabras clave: *Queso Castellano*, leche pasteurizada, color, imagen, caracterización.

INTRODUCCIÓN

De la importancia de la industria del queso y de la quesería en Castilla y León sirva como referencia *la Memoria de La Cámara de Comercio e Industria de Valladolid* referida a los años 1966-1967 (Cámara Oficial de Comercio e Industria, 1968) donde se describe con mucho detalle la relevancia e importancia que la industria láctea y sobre todo la industria quesera tenía en Valladolid con un importante número de queserías

tanto en la provincia (44 queserías) como en la capital (5 industrias queseras). En la mayor parte de estas queserías se fabricaba el *Queso Castellano*, eso sí con ligeros matices que les diferenciaba sobre todo por la localidad de procedencia: Villadiego, Villalba de los Alcores, de Esgueva, de Medina de Rioseco, de Ataquines (Moro y Pons, 1983), tipo Cerrato (Tomillo, Ataquines, Medina de Rioseco), (Ortega, 1987), Peñaflor (Ortega, 1989), etc.

Algunos autores ya trataron sobre el color y aspectos de la pasta del *Queso Castellano* pero de una manera un tanto coloquial y en muchos casos difícil de comprender o clasificar (Rodríguez *et al.*, 2013). Así Moro y Pons (1983) habla del color de pasta como blanco marfil o blanco amarillento y dice que existen ojos en la pasta en pequeño número, desiguales o sin ojos. Ortega (1987) dice que la pasta es blanquecina y con algunos ojos. Canut y Navarro (1990) dice que la pasta es blanco amarillenta y que la pasta no tiene ojos pero si pequeñas oquedades. Por su parte Cenzano (1992) dice que el color de la pasta es blanco amarillento y que la pasta tiene pequeñas oquedades de origen mecánico. Ramírez (2009) dice que el color de la pasta varía del blanco al amarillo y que la pasta es ciega. Rodríguez *et al.* (2014) caracterizó los *Queso Castellanos* procedente de leche cruda describiéndoles con una luminosidad media (L) alta, un color amarillo débil (parámetro b^* positivo) y la pasta de estos quesos presentan pocos poros o agujeros distribuidos por toda la pasta de forma irregular (porosidad y densidad de poros).

El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización instrumental (color e imagen) del Queso Castellano procedente de leche pasteurizada de oveja con 6-9 meses de maduración, que permita unas comparaciones más efectivas dejando un poco de lado las caracterizaciones más “coloquiales” que se han producido hasta ahora.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó con quesos de pasta prensada elaborados por 5 queserías diferentes que fueron suministrados por la Promotora de la Marca de Calidad (MC) *Queso Castellano*, a través de la Federación Castellano Leonesa de Industrias Lácteas. Cada quesería suministró 2 piezas enteras de queso que pesaron entre 2 y 3,5 kg de peso. Todos los quesos fueron elaborados con leche pasteurizada de oveja y con un periodo de maduración entre 6-9 meses. En uno de los quesos de cada quesería se realizó el análisis instrumental del color y un análisis de imagen.

Análisis de color

se realizaron medidas de color interior de los quesos, a temperatura controlada (15-20°C) mediante colorímetro Konica Minolta CR-410 con iluminante D65 y observador estándar de 2°. Los resultados fueron expresados de acuerdo con el espacio de color CIELAB a través de las coordenadas de cromaticidad (a^* y b^*) y la luminosidad (L^*) siguiendo la norma española UNE 72031 (1983). Para poder interpretar correctamente los resultados se debe tener en cuenta que cuanto mayor sea el valor de L^* más blanco es el queso; un valor positivo de a^* (a^{*+}) significa que tiene componente roja, si en cambio, es negativo (a^{*-}) tiene componente verde; por otra parte si b^* es positivo (b^{*+}), significa que el color tiene componente amarilla y si, en cambio, es negativa (b^{*-}), la tiene azul (Iñiguez *et al.*, 1995). Se realizaron 4 medidas de cada uno de los quesos.

Análisis de imagen

se tomaron fotografías del interior de los quesos, una vez eliminada la zona cortical en condiciones de iluminación controladas. A cada queso se le realizaron cuatro fotografías, las cuales coincidían con el lugar donde se había realizado la medida de color. Las fotos fueron analizadas con el programa Sigma Scanpro®, mediante análisis gráfico se calculó la porosidad, densidad de poro, área media de poro, diámetro medio de poro así como el factor de forma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color instrumental

El valor medio, la desviación estándar, los valores mínimos y máximos, el rango y el coeficiente de variación de las características de color obtenidas para los *Quesos Castellanos* según el sistema CieLab se muestra en la Tabla 1. En ella se observa que los quesos presentaron una luminosidad (L^*) alta de 84,88 indicando un valor próximo al blanco (100). Variaron entre 82,20 (color menos blanco) y 87,02 (color más blanco) con un rango de variación de 4,82 que se puede considerar medio. El valor medio de a^* está ligeramente por debajo de cero (-1,50), lo que se corresponde con cierta tonalidad verde, con un mínimo de -2,18 y un máximo de -0,82 (color con componente verde sin llegar a roja) con un rango de variación de -1,36. El parámetro b^* tiene un valor medio de 18,94 lo que correspondería a un color amarillo bastante débil, con un mínimo de 17,63 (color menos amarillo) y un máximo de 22,26 (color más amarillo) y un rango de variación de 4,63 que también se puede considerar medio-alto.

Tabla 1. Valores medios, desviación estándar, valores mínimos, máximos, rango y coeficiente de variación de los parámetros del color L, a y b (sistema CieLab) de los *Quesos Castellanos* procedentes de leche pasteurizada.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	Rango	CV
L*	84,88	1,95	82,20	87,02	4,82	2,30
a*	-1,50	0,60	-2,18	-0,82	-1,36	40,15
b*	18,94	1,92	17,63	22,26	4,63	10,11

Los datos de color instrumental de la pasta del *Queso Castellano* previamente documentados (Rodríguez *et al.*, 2014), se refieren a quesos procedentes de leche cruda y de manera global tienen unos resultados medios inferiores en Luminosidad (L*83,82) y mayores en rojo-verde (a* -0,79) y en amarillo-azul (b* 20,21). Estas particularidades del color parece que podrían estar relacionadas con el propio procesado de la leche (cruda y pasteurizada) y también con la alimentación del ganado (Nozière *et al.*, 2006 y Coppa *et al.*, 2011).

Análisis de imagen

La porosidad de la pasta (porcentaje de huecos) y la densidad de poro (calculado como el número de poros por mm²), el diámetro medio de los huecos calculado a través de la media (mm), el área media de los huecos (mm²) y el factor de forma o esfericidad (se mide en unidades: cuanto más cerca de la unidad más esférico) de los quesos aparecen en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores medios, desviación estándar, valores mínimos y máximos y coeficiente de variación de la porosidad, densidad de poros, diámetro medio, área media y factor de forma o esfericidad de los poros de los quesos del grupo de *Quesos Castellanos* de leche pasteurizada.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	CV
Porosidad (%)	1,29	0,96	0,22	2,75	74,03
Densidad poros (u/mm ²)	1,20	0,58	0,29	1,75	48,51
Área media (mm ²)	0,98	0,43	0,54	1,60	43,48
Diámetro medio (mm)	0,88	0,18	0,58	1,03	19,94
Factor de forma (u)	0,79	0,04	0,75	0,86	5,57

Los ojos observados en los quesos presentaron forma irregular y diferentes tamaños, como consecuencia de su mayoritario origen mecánico asociado a la etapa de moldeo.

La porosidad media de la pasta fue baja con un valor medio de 1,29% y un rango variación bastante amplia que va desde el 0,22% hasta el 2,75%; además su coeficiente de variación es alto, lo que indica un grado

de heterogeneidad relativamente grande entre las muestras de queso. La densidad media del poro también es pequeña de 1,20 con un rango de variación entre 0,29 y 1,75 y un coeficiente de variación menor. El área media del poro fue de 0,98 mm² con un rango de variación que oscila entre 0,54 y 1,60 mm². El diámetro medio de los poros observados fue de 0,88 mm, con un rango de variación que oscila entre 0,58 y 1,03 mm; además su coeficiente de variación es bastante bajo, lo que indica cierta homogeneidad de las muestras de queso analizado para este parámetro. El factor de forma es bastante alto 0,79 con un rango de variación bastante estrecho entre 0,75 y 0,86, además de tener el menor coeficiente de variación de todos los parámetros estudiados.

No existen estudios previos por técnicas de análisis de imagen para la pasta del Queso Castellano exceptuando los reportados por Rodríguez *et al.* (2014) para el *Queso Castellano* de leche cruda. En este caso, los quesos de leche pasteurizada tienen una densidad media de los poros mayor que los de leche cruda (1,20 u/mm² frente a 0,68 u/mm²) pero en el resto de parámetros (porosidad de la pasta, el diámetro medio de los poros, el área media de los huecos y el factor de forma o esfericidad) son mayores las medias obtenidas en los quesos de leche pasteurizada en relación a los de leche cruda. Esto probablemente tenga que ver con el tratamiento térmico de la leche y su posterior procesado y evolución.

CONCLUSIONES

Los Quesos Castellanos fabricados a partir de leche pasteurizada de oveja y con 6-9 meses de maduración en relación al color presentaron una luminosidad alta con un valor próximo al blanco (L*), con ligerísima tonalidad verde (a*) y amarillo bastante débil (b*), aunque se observa una rango de variación medio-alto en este parámetro. En el análisis de imagen presentaron pocos poros o agujeros, que son de tamaño variable, aunque de diámetro medio pequeño; están distribuidos de forma irregular y tienen un origen mecánico fundamentalmente.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) y por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León), (Proyecto 2013-000369).

BIBLIOGRAFÍA

- Cenzano, I. (1992). Capítulo tercero: Los Queso de España. En: *Los quesos*. Editorial Mundi-Prensa Libros, S.A. pp. 74-75. Madrid (España).
- Coppa, M., Ferlay, A., Monsailler, F., Verdier-Metz, L., † Pradel, P.R., Didienné, R.A., Farruggia, A., Montel, M.C., and Martin, B. (2011). Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *J. Dairy Sci.* 94:1132–1145.
- Moro, L.C., Pons, B. (1983). 2. Breve Historia del Queso. En: *Los Quesos de Castilla y León*. Editorial Agrícola Española, S.A. pp. 17-19. Madrid (España).
- Nozière, P., Graulet, A. Lucas, B. Martin, P. Grolier, and Doreau, M. (2006). Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:418–450.
- Ortega, S. (1987). Quesos castellano-leoneses. En: *Quesos Españoles*. Alianza Editorial, S.A. pp. 107-108. Madrid (España).
- Canut, E., Navarro, E. (1990). Catálogo de Quesos de España. Edita Ministerio de Agricultura Pesca y alimentación. Madrid (España).
- Iñiguez, M., Ortega, A.P., Rosales, A., Ayala, A. y Puras, P.(1995).. Estudio del color de los vinos tintos de la Rioja. *Zubia Monográfico*, 7: 167-186.
- Ramírez, M.A. (2009). Comunidad Autónoma de Castilla y León. En: *Guía de los Quesos Españoles*. Edita Publicaciones Técnicas Alimentarias. pp. 166. Madrid (España).
- Rodríguez, L.A., Asensio, C., Delgado, D. (2013). Queso Castellano. Descripción bibliográfica e histórica de un gran queso. XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. pp. 406-413. Málaga (España).
- Rodríguez L.A., Asensio, C., Delgado, D., Gredilla (2014). Queso Castellano. Caracterización Físico-química, instrumental y sensorial de los quesos de leche cruda de oveja. II Parte: Caracterización Instrumental (color y análisis de imagen). XXIX Congreso Nacional SEOC 2014 y XV Internacional. pp. 263-268. Ourense. (España).
- UNE 72031 (1983). Magnitudes calorimétricas. ICS 17.180.20/Colores y medición de luz. AEC/CTN-72 iluminación y color.

CASTELLANO CHEESE. CHARACTERIZATION OF PASTEURIZED MILK CHEESES SHEEP. PART II: INSTRUMENTAL CHARACTERIZATION (COLOR AND IMAGE ANALYSIS)

SUMMARY

This paper presents a study of color and image analysis Castilian Cheese from pasteurized milk is made. This has been used 10 cheeses from 5 dairies located in different provinces of the Community of Castile and León. The Castellanos cheeses manufactured from pasteurized sheep's milk and 6-9 months maturation in relation to color showed high brightness with a value close to white (L^*), with very slight green hue (a^*) and rather weak yellow (b^*), although medium-high range variation observed in this parameter. In relation to image analysis, these cheeses have few pores or holes, which are variable in size but small average diameter; are distributed so irregular and have essentially a mechanical origin

Key words: *Cheese Castellano*, colour, image, characterization pasteurized milk.

QUESO CASTELLANO. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA, INSTRUMENTAL Y SENSORIAL DE LOS QUESOS DE LECHE PASTERIZADA DE OVEJA. III PARTE: CARACTERIZACIÓN SENSORIAL

RODRÍGUEZ, L.A.*; ASENSIO, C. y DELGADO, D.

Estación Tecnológica de la Leche. Instituto Tecnológico Agrario
Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y
Ganadería. Junta de Castilla y León. Ctra. Autilla s/n. 34071 Palencia.

*rodruilu@itacyl.es

RESUMEN

En Castilla y León es bien conocido el denominado Queso Castellano, producto vinculado con un origen y unos métodos tradicionales de elaboración. En este trabajo se complementa la caracterización sensorial de los *Quesos Castellanos* de leche de oveja elaborados con leche pasterizada, con el objeto de poder avalar la solicitud de una posible IGP del *Queso Castellano*. Estos quesos destacan porque tienen alta intensidad de olor y un sabor salado moderado-alto, su textura es bastante firme, aunque son moderadamente solubles y adherentes. Su persistencia es baja y en general son poco picantes.

Palabras clave: Queso castellano, caracterización sensorial, leche pasterizada.

INTRODUCCIÓN

Aunque algunos autores como Moro y Pons (1983), Moro (1992), Cenzano (1992), Ministerio de Agricultura (Anónimo, 1990), etc., ya describían el *Queso Castellano* desde el punto de vista no solo sensorial sino desde una perspectiva más global, diversas vicisitudes han llevado a no conseguir una marca de calidad a nivel europeo (IGP), que ampare el tipo de queso elaborado con leche de oveja de manera tradicional en la mayor parte de las provincias de Castilla y León (Rodríguez *et al.*, 2013). Posteriormente en otras publicaciones como en el “Catálogo Electrónico

de Quesos de España” (MAGRAMA, 2013) se han definido las principales características sensoriales del *Queso Castellano* que conviene ajustar y discutir, en aras a una mejor interpretación y calificación de los resultados obtenidos por otros autores y/o grupos de investigación.

El objetivo de este trabajo es definir las principales características del *Queso Castellano* en cuanto al olor, sabor y textura de los quesos de pasta prensada de coagulación enzimática, con 6-9 meses de maduración, procedentes de leche de oveja pasterizada y producidos en Castilla y León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar la caracterización sensorial se utilizaron un total de 10 quesos procedentes de 5 queserías (2 quesos de cada una) distribuidas en las provincias de Castilla y León.

Se llevó a cabo con un panel formado por 14 catadores con un entrenamiento básico previo como señala la norma UNE 87-024:1- 95 y con la ayuda de la Guía para la evaluación olfato-gustativa de los quesos de pasta dura o semidura (Bérodier *et al.*, 1996), la Guía para la evaluación sensorial de la textura de quesos de pasta dura o semidura de leche de oveja (Lavanchy *et al.*, 1999) y la norma FIL -IDF 99C:1997 y las normas ES ISO 22935-1: 2012, ES ISO 22935-2: 2012 y ES ISO 22935 -3: 2012 sobre la evaluación sensorial de la leche y productos lácteos.

La metodología llevada a cabo para el análisis sensorial fue idéntica a la descrita por Rodríguez *et al.* (2014) para el Queso Castellano procedente de leche cruda: entrenamiento, lista de descriptores, preparación de las muestras, temperatura de cata, ficha de cata y los mismos 29 descriptores ya utilizados. Las catas se realizaron durante 16 sesiones, y en cada una de ellas se presentaron a cada catador 5 muestras de forma aleatoria. Se propuso a los catadores evaluar cada queso por duplicado, utilizando para ello una escala de 10 cm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial descriptivo de los *Quesos Castellanos* de leche pasterizada se muestran a continuación.

Olor

Las características sensoriales relacionadas con el olor de los quesos Castellanos procedentes de leche pasterizada aparecen en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores medios, desviación estándar, valores mínimos y máximos y coeficiente de variación para los principales descriptores sensoriales de olor de los Quesos Castellanos de leche cruda.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	CV
Intensidad Olor	63,91	4,28	55,71	71,14	5,61
Láctico Olor	41,40	5,34	34,36	49,93	13,07
Mantequilla olor	33,69	3,77	25,00	39,93	7,87
Afrutado Olor	25,95	4,32	17,00	33,79	15,77
Frutos Secos Olor	17,33	1,97	13,36	20,07	11,50
Caramelo olor	36,69	5,69	28,50	45,07	14,38
Vegetal Olor	8,47	5,11	2,57	18,07	56,93
Animal Olor	3,24	2,68	0,50	7,64	82,57

Estos quesos presentaron una intensidad de olor alta (63,91), pero con un rango de variación que va desde (55,71) en los menos intensos hasta (71,14) los más intensos y un coeficiente de variación bajo. La intensidad de olor observada es mayor que la descrita por el MAGRAMA (2013) para estos quesos, donde se les atribuye un olor de intensidad moderada. Destaca el olor láctico moderadamente bajo (41,40) con un valor sensiblemente superior al publicado por Rodríguez *et al.* (2014) en Queso Castellano de leche cruda (31,53). Algo similar ocurre con el olor a caramelo (36,69) también mucho más elevado que en quesos de leche cruda (15,65). Es de destacar el olor bajo a frutas (25,95) con olores muy débiles a frutos secos (17,33) a vegetal (8,47) y a animal (3,24).

Sensaciones olfato-gustativas y otras sensaciones gustativas

Las características sensoriales relacionadas con el sabor de los quesos Castellanos procedentes de leche pasterizada aparecen en la Tabla 2

Tabla 2. Valores medios, desviación estándar, valores mínimos y máximos y coeficiente de variación para los principales descriptores sensoriales de sabor, aroma y persistencia de los *Quesos Castellanos de leche cruda*.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	CV
Intensidad sabor	69,31	3,82	60,50	74,14	5,61
Sabor Ácido	49,98	6,89	33,79	57,64	13,07
Sabor Salado	57,47	12,33	45,36	91,07	7,87
Mantequilla	33,70	2,15	29,79	38,36	15,77
Caramelo	36,26	4,91	22,43	41,79	11,50
Frutos Secos	23,18	3,57	15,64	29,00	14,38
Afrutado	15,47	2,18	10,86	19,36	56,93
Vegetal	9,86	3,52	2,64	15,50	82,57
Animal	5,71	4,02	0,43	13,43	5,61
Picor	4,41	2,68	1,57	10,57	13,07
Regusto	24,21	4,44	15,07	32,43	7,87
Persistencia	26,10	5,81	15,07	34,07	15,77
Valoración Global	63,66	3,83	55,43	70,36	11,50

Presentaron una intensidad de sabor alta (69,31) con cifras muy similares a las obtenidas por Rodríguez *et al.* (2014) para el Queso Castellano de leche cruda (68,23). Son quesos con moderado-alto sabor salado (57,47), pero bastante superiores a los obtenidos para los Quesos Castellanos de leche cruda (34,45). Presentaron sabores moderados a ácido (49,98), a caramelo (36,26) y mantequilla (33,70). Tanto el sabor a frutos secos (23,18) como el sabor afrutado (15,47) son bajos, pero con un coeficiente de variación muy alto, lo que viene a determinar cierta heterogeneidad del panel de catadores para este descriptor. En ambos casos sus valores son superiores a los obtenidos para los Quesos Castellanos de leche cruda (8,77 y 5,53 respectivamente). Por el contrario las sensaciones olfato-gustativa a vegetal (9,86) y a animal (5,71) son muy bajas, respecto a las obtenidas por Rodríguez *et al.* (2014) en queso de leche cruda (19,76 a vegetal y 46,31 a animal).

En relación a otras sensaciones gustativas se puede afirmar que son quesos muy poco picantes (4,41), a diferencia de lo descrito por Rodríguez *et al.* (2014) para los quesos procedentes de leche cruda (32,38) y que está en concordancia con las indicaciones de Canutt y Navarro (1990) y Cenzano (1992). Son quesos con una persistencia baja (26,10), diferente a lo descrito por Moro (1992) que destaca: “su sabor es suave con 3 meses de maduración y recio y sabroso con 8-12 meses”,

por Harbutt (2010), que lo describe: “con un intenso gusto final” y por Rodríguez *et al.* (2014) para el Queso Castellano de leche cruda donde la persistencia es alta (56,04).

Textura

Las características sensoriales relacionadas con la textura de los *Quesos Castellanos* procedentes de leche pasteurizada aparecen en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores medios, desviación estándar, valores mínimos y máximos desviación estándar y coeficiente de variación, para los descriptores sensoriales de textura de los *Quesos Castellanos de leche cruda*.

	Media	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	CV
Firmeza	67,25	4,68	59,21	74,43	6,91
Elasticidad	32,79	4,52	26,50	41,71	13,00
Adherencia	42,94	7,27	27,43	50,79	17,26
Solubilidad	46,81	2,65	42,50	50,43	5,64
Friabilidad	33,66	4,28	29,00	40,86	11,78
Granulosidad	30,24	3,00	26,00	37,14	9,67

Los Quesos Castellanos de leche pasteurizada presentaron una pasta bastante firme (67,25), moderada solubilidad (46,81) y adherencia en boca (42,94), con valores muy similares a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2014) y también con características muy similares a lo descrito por Canutt y Navarro (1990), que los definen como mantecosos y fundentes al paladar, o Cenzano (1992) que dice que son mantecosos, pero diferente a lo expuesto en el Catálogo Electrónico de Quesos de España (MAGRAMA, 2013) que considera a estos quesos poco adherentes. Presentan baja friabilidad (33,66), elasticidad (32,79) y granulosidad (30,24) similar de lo expuesto en el Catálogo Electrónico de Quesos de España (MAGRAMA, 2013), que considera a estos quesos poco desmenuzables y ligeramente superiores a los valores obtenidos por Rodríguez *et al.* (2014) para los Queso Castellanos de leche cruda.

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista sensorial el *Queso Castellano* fabricado a partir de leche pasteurizada de oveja con 6-9 meses de maduración, se caracteriza por:

- **Olor:** intensidad de olor alta, donde predomina el olor láctico y a caramelo. Olor bajo a frutas y muy débil a frutos secos vegetal y a animal.
- **Sensación olfato-gustativa:** alta intensidad de sabor donde prevalecen los sabores salado y ácido, con un moderado sabor a caramelo y mantequilla, un suave sabor afrutado y a frutos secos y un ligero sabor a vegetal y a animal.
- **Otras sensaciones gustativas:** son quesos muy poco picantes, de baja persistencia y con bajo regusto final.
- **Textura:** quesos bastante firmes, moderadamente solubles y adherentes, con baja elasticidad y muy poco friables y granulosos.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) y por el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Consejería de Agricultura y Ganadería, Junta de Castilla y León), (Proyecto 2013-000369).

BIBLIOGRAFÍA

- Canut, E. y Navarro, F. (1990). Catálogo de Quesos Españoles. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. España.
- Bérodier, F., Lavanchy, P., Zannoni, M., Casals, J., Herrero, L. et Adamo. C. (1996). Guía para la evaluación olfato-gustativa de los quesos de pasta dura o semidura. Poligny. Ed. G.E.CO.TE.F.T.
- Cenzano, I (1992). Capítulo tercero: Los Quesos de España. En: *Los quesos*. Editorial Mundi-Prensa Libros, S.A. pp. 74-75. Madrid (España).
- FIL-IDF: 1997. Standard 99C. Sensory evaluation of dairy products by scoring. ISO 22935: 2012. Milk and milk products sensory analysis. Part 1: General guidance for the recruitment, selection, training and monitoring of assessors. Part 2: Recommended methods for sensory evaluation. Part 3: Guidance on a method for evaluation of compliance with products specifications for sensory properties by scoring.
- Harbutt, J (2010). “España y Portugal”. En: *El libro del queso. La mejor selección. Notas de cata. Más de 750 quesos. Como disfrutarlo.* pp 152. Editorial Akal. Madrid (España).
- Lavanchy, P., Berodier, F., Zannoni, M., Noël, Y., Adamo, C., Squella, J., y Herrero, L. (1999). Guía para la evaluación sensorial de la textura de quesos de pasta dura o semidura. Paris, Ed. INRA.
- MAGRAMA (2013). Catálogo electrónico de quesos de España. Queso Castellano. Disponible desde internet: http://www.alimentacion.es/es/conoce_lo_que_comes/bloc/queso/default/fichas-de-quesos/queso-castellano/default.aspx [consulta: diciembre 2013].

- Moro, L.C., Pons, B. (1983). 2. Breve Historia del Queso. En: *Los Quesos de Castilla y León*. Editorial Agrícola Española, S.A. pp. 17-19. Madrid (España).
- Moro, L.C. (1992). Los Quesos de Valladolid. En: *Los Quesos de Valladolid*, pp. 19-20. Editorial Simancas. Valladolid (España).
- Rodríguez, L.A., Asensio, C., Delgado, D. (2013). Queso Castellano. Descripción bibliográfica e histórica de un gran queso. XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. pp. 406-413. Málaga (España).
- Rodríguez L.A.; Asensio, C.; Delgado, D.; Gredilla (2014). Queso Castellano. Caracterización Físico-química, instrumental y sensorial de los quesos de leche cruda de oveja. III Parte: Caracterización Sensorial. XXIX Congreso Nacional SEOC 2014 y XV Internacional. pp. 275-280. Ourense. (España).
- UNE 87-024:1-95 (1995). Análisis Sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. AENOR.

CASTELLANO CHEESE. CHARACTERIZATION OF PASTEURIZED MILK CHEESES SHEEP. PART III: SENSORY CHARACTERIZATION

SUMMARY

In Castilla y León is well known cheese called Castellano, items connected to a source and a traditional processing methods. In this work the sensorial characterization Castellanos sheep milk cheeses made from pasteurized milk in order to be able to endorse the request for a possible IGP Cheese Castellano complements. These cheeses stand out because they have high intensity of smell and taste, moderate-high is its salty taste, texture is quite firm but are sparingly soluble and adherents. Their persistence is low and generally are slightly spicy.

Key words: Castellano Cheese, sensory, characterization, pasteurized milk.

NUEVOS MÉTODOS APLICADOS AL CONTROL DE LA HIGIENE DE LOS EQUIPOS Y SALAS DE ORDEÑO EN EXPLOTACIONES OVINAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD HIGIÉNICO SANITARIA DE LA LECHE: PRIMEROS RESULTADOS

VILLAMEDIANA, R.^{1*}; GONZALEZ, M.G.²; TABERNERO DE PAZ, M.J.³; BODAS, R.³; RODRÍGUEZ, L.A.³; DELGADO, D.³; ASENSIO, C.³ y BUENO, F.³

¹S. Cooperativa Quesos Cerrato, 34200 Baltanás (Palencia).

²S. Cooperativa Nutecal, 49600 Benavente (Zamora).

³Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León.

*rvillamediana@agropalsc.com

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio en 18 explotaciones de ganado ovino lechero de Castilla y León con el fin de determinar la relación entre parámetros de calidad higiénico-sanitaria de la leche con la producción, la contaminación ambiental (recuento de mohos y levaduras) y la limpieza de los equipos en sala de ordeño y lechería. Los parámetros de limpieza fueron evaluados mediante técnicas rápidas (bioluminiscencia del ATP), que pueden ser introducidas en los controles rutinarios de granja para conocer la higiene de las explotaciones.

El estudio constató una correlación positiva entre el recuento de mohos y levaduras en el aire de la lechería y la sala de ordeño. Por otro lado, los niveles de ATP en las pezoneras se correlacionaron con el recuento de mohos y levaduras en la sala de ordeño y en la lechería y también mostraron una tendencia positiva con el RCS y el recuento de bacterias en la leche.

Palabras clave: bioluminiscencia de ATP, calidad del aire, recuentos de bacterias, RCS.

INTRODUCCIÓN

La higiene y salud de la glándula mamaria tienen un claro efecto sobre la calidad sanitaria de leche obtenida; así la infección de la glándula mamaria explica el 48% de la varianza en el recuento de células somáticas (RCS) en la leche de oveja (Gonzalo *et al.*, 2009; Gonzalo 2014). Recuentos bacterianos altos en el tanque y en las pezoneras son indicativos de una limpieza deficiente (Arana *et al.*, 2002). Asimismo, la presencia de partículas de polvo, esporas de mohos y levaduras, etc., procedentes del ambiente exterior (portadas fundamentalmente por corrientes de aire, los animales o los operarios) puede ser también una fuente de contaminación para la leche durante las etapas de obtención o almacenamiento.

Los métodos tradicionalmente utilizados para evaluar la higiene y la limpieza en los equipos de ordeño han sido, de forma directa, la toma de muestras mediante torundas y el posterior cultivo en laboratorio, cuyos resultados conllevan largos tiempos de espera. Éstos pueden evitarse mediante el empleo de nuevas técnicas de medición indirecta inmediata. La bioluminiscencia de ATP es un método de detección de contaminación, no sólo bacteriana, sino también de ATP procedente de restos orgánicos. La presencia de ATP, consecuencia de un deficiente proceso de limpieza, supone una fuente de nutrientes para el crecimiento bacteriano. Esta técnica se ha utilizado en la industria alimentaria para evaluar la calidad de la limpieza y la desinfección, habiéndose sugerido su posible uso práctico como indicador de los recuentos bacterianos en leche de tanque (Vilar *et al.*, 2008).

El objetivo de este estudio es evaluar nuevos métodos de medida de la higiene y limpieza de los equipos de ordeño (bioluminiscencia del ATP) y de la contaminación ambiental (mohos y levaduras), que puedan implementarse como método de auditoría y control de higiene de la explotación en la rutina del veterinario de campo, y su relación con los parámetros de producción y calidad higiénico-sanitaria de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio ha sido realizado entre el segundo semestre del año 2014 y el primer trimestre del 2015. Para la toma de datos se han realizado 4 visitas, con 3 meses de intervalo entre ellas, a 18 explotaciones de ovino lechero situadas en las provincias de Burgos, León, Palencia y Zamora. Se tomaron muestras del aire de la sala de ordeño y la lechería (local donde se aloja el tanque de refrigeración) para el recuento de mohos y levaduras. Para ello se empleó un muestreador de aire (Air Sampler RCS

Biotest Hycon, Merck Millipore, Alemania) que se hizo funcionar durante 30 segundos para aspirar un volumen de 20 litros de aire y depositar las partículas en suspensión sobre una tira con un medio de cultivo selectivo para mohos y levaduras (SDX Hycon, Merck Millipore, Alemania). Tras un periodo de incubación de 5 días se contaron las colonias crecidas y los resultados se expresaron como número de gérmenes por 100 litros de aire aspirado (UFC/100 L.). Por otra parte, se tomaron muestras de la superficie interna del tanque y de la última pezonera (circuito de ordeño) para medir los niveles de ATP por bioluminiscencia (Lumitester PD-20, Kikkoman Food Products Company, Japón). Este sistema se basa en medir la bioluminiscencia que se genera cuando el ATP (procedente de bacterias y/o restos de alimento) se descompone por acción de la enzima luciferasa. A mayor grado de suciedad mayor cantidad de luminiscencia emitida; el equipo mide la luminiscencia en unidades relativas de luz (URL) (Vilar *et al.*, 2008). Todas las medidas se realizaron después de la limpieza del tanque y de la sala de ordeño. Paralelamente se tomaron datos de producción y de calidad higiénico-sanitaria de la leche en tanque (recuento de bacterias totales y de células somáticas, determinadas por el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla y León), correspondientes al mes de toma de muestras.

Se obtuvieron los valores medios para cada parámetro estudiado y se realizaron análisis de correlación entre los parámetros relativos a la contaminación del aire (tanto en sala de ordeño como en lechería), niveles de ATP (en la máquina de ordeño y tanque) entre si y con aquellos relacionados con la producción y calidad higiénico-sanitaria de la leche. Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS 16.0 para Windows (IBM Corp., Nueva York, EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores que se presentan en la Tabla 1 son una media de los valores medios observados para cada una de las explotaciones auditadas. Las unidades relativas de luz (URL) son numéricamente mayores en la sala de ordeño que en el tanque. Hay que tener en cuenta que las mediciones se realizaron en sala de ordeño en la última pezonera, que es de un material no inerte y con recovecos, donde puede quedar acantonada materia orgánica, pese a realizar una correcta limpieza del circuito de ordeño (se eligió esta pezonera debido a su mayor dificultad de limpieza y porque podría valer como testigo de alerta rápida en caso de altos valores de bioluminiscencia). En cambio el tanque de refrigeración es de una material inerte y liso (acero inoxidable), lo que facilita su limpieza y, por consiguiente, reduce el número de microorganismos presentes. Aunque no existen valores reportados por otros autores pensamos que

los valores obtenidos son altos teniendo en cuenta que la medición se hacía después de la limpieza de los equipos.

Por lo que respecta al recuento de mohos y levaduras en el aire de la sala de ordeño y de la lechería, los valores medios son también numéricamente superiores en la sala de ordeño que en la lechería. En el caso de las lecherías, que teóricamente son establecimientos alimentarios donde las condiciones de higiene, limpieza y desinfección deberían ser máximas, existe la paradoja que solo el 55% de ellas estaban físicamente separadas de las salas de ordeño por una puerta o pared. En general ambas estancias son contiguas, lo que favorece el intercambio de volúmenes de aire y, por tanto, de partículas, factor que puede influir directamente en la contaminación por mohos y levaduras en la lechería e indirectamente en la propia limpieza e higiene de los equipos.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros estudiados.

	Media	Mínimo	Máximo	Desv. Típ.	N
URL tanque de lechería (log)	2,74	1,15	5,43	0,855	71
Mohos y levaduras lechería (log UFC/100 l aire)	2,82	2,04	3,78	0,428	68
URL última pezonera sala ordeño (log)	3,24	1,59	5,32	0,612	68
Mohos y levaduras sala de ordeño (log UFC/100 l aire)	2,89	1,85	3,87	0,460	65
Producción mensual de leche (litros)	16.320	196	55.516	13.838,8	71
RCS (log)	6,01	5,40	6,48	0,281	71
Bacterias totales (log)	5,06	4,41	6,33	0,337	71

URL = Unidades de luminiscencia relativa; UFC = unidades formadoras de colonias.

En la Tabla 2 se exponen las correlaciones significativas entre los parámetros relacionados con la calidad higiénico-sanitaria de la leche, las URL en pezoneras y tanque, los recuentos de mohos y levaduras en el aire y la producción de leche.

Los recuentos de mohos y levaduras del aire en la sala de ordeño y lechería se correlacionan positivamente ($r=0,89$; $P<0,01$), como era de esperar, dada la comunicación que existe entre estos locales en las explotaciones. La URL medida en las pezoneras, que refleja el nivel de suciedad acumulado, se correlacionó con el recuento de mohos y levaduras en la sala de ordeño ($r=0,33$; $P<0,01$) y en la lechería ($r=0,39$; $P<0,01$), pero no se correlacionó con la URL medida en el tanque. También la URL de las pezoneras mostró una tendencia de correlación con el RCS ($r=0,23$; $P<0,1$) y bacteriología ($r=0,26$; $P<0,1$).

Una tendencia similar ($r=0,25$; $P<0,1$) fue observada entre la URL del tanque y la bacteriología de la leche. Finalmente, se comprobó una correlación positiva entre RCS y las bacterias totales ($r= 0,62$; $P<0,01$) y una correlación negativa de estos dos parámetros con la producción de leche ($r= -0,56$ y $-0,41$; $P<0,01$, respectivamente), datos que coinciden con los reportados por otros autores como Gonzalo *et al.* (2006), Oliete *et al.* (2010) y Gonzalo (2014).

Tabla 2. Coeficientes de Pearson (y número de casos) para las correlaciones significativas entre los parámetros estudiados.

	URL tanque	URL pezonera	Mohos y levad. Lechería	Mohos y levad. Sala ordeño	Producción de leche	RCS (log)
URL pezonera			0,39**			
Mohos y levad. Sala ordeño		0,33**	0,89**			
RCS (log)		0,23t			-0,56**	
Bacterias (log)	0,25t	0,26t			-0,41**	0,62**

$t = P<0,10$; ** = $P<0,01$.

CONCLUSIONES

1. Los recuentos de mohos y levaduras de aire en sala de ordeño y en lechería están correlacionados positivamente entre sí, lo que indica una ineficiente separación de ambas estancias para evitar la contaminación cruzada.
2. El nivel de limpieza de las pezoneras, evaluado mediante bioluminiscencia del ATP, se correlacionó con el recuento de mohos y levaduras en la sala de ordeño y en la lechería. Además también mostró una tendencia positiva con el RCS y el recuento de bacterias en la leche.
3. Los nuevos métodos de medición del ATP y de mohos y levaduras ambientales pueden ser una herramienta útil para determinar el nivel de limpieza y las condiciones higiénico-sanitarias de la sala de ordeño y la lechería.
4. Sería conveniente realizar estudios más amplios para una mejor utilización de esta técnica en granjas.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado dentro del proyecto IDI PRE/917/2013 financiado por el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, en el desarrollo del contrato de Investigación entre el ITACYL y las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal.

BIBLIOGRAFÍA

- Arana, M.J., Ocaña, E., Terradillos, A., 2002. Manual de instalaciones para explotaciones lecheras. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 246 pp.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Benitez, E., Juarez, M.T., de la Fuente, L.F., San Primitivo, F., 2009. Bulk tank total bacterial count in dairy sheep: factors of variation and relationship with somatic cell count. *J. Dairy Sci.*, 89, 549-552.
- Gonzalo, C., 2014. Células somáticas y calidad higio-sanitaria de la leche: factores de variación, sistemas de monitorización y relación con el manejo del rebaño. XXXIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, pp. 88-107. Federapres.
- Vilar, M.J., Rodríguez-Otero, J.L., Diéguez, F.J., Sanjuán, M.L., Yus, E., 2003. Application of ATP bioluminescence for evaluation of surface cleanliness of milking equipment. *Int. J. Food Microbiol.* 125, 357-361.
- Oliete, B., Calatayud, M., García, O., Arias, C., Gallego, R., Arias, R. y Perez-Guzman, M.D., 2010. Efecto de las condiciones higiénico-sanitarias sobre el recuento de células somáticas y microorganismos totales de la leche de tanque de rebaños ovinos de raza Manchega. XXV Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, pp. 50-55. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.

NEW METHODS APPLIED TO THE CONTROL OF HYGIENE OF MILKING EQUIPMENT AND FACILITIES IN SHEEP FARM AND ITS RELATIONSHIP WITH TOILET AND HEALTH OF MILK QUALITY: FIRST RESULTS

SUMMARY

A study was conducted in 18 dairy farms sheep of Castilla y León with the primary objective of determining the relationship between production parameters and hygienic-sanitary quality of milk with environmental pollution (count of molds and yeasts) and cleaning equipment in milking parlor and dairy assessed by rapid techniques (bioluminescence ATP), which may be introduced into the routine of a field-veterinarian as a method to monitor hygiene of farms. The study found a positive correlation between the count of molds and yeasts in dairy air and parlor. Furthermore ATP levels measured in tank and milking machine nipple showed a positive correlation, but with a very small coefficient of determination, the total bacterial count in milk tank.

Key words: ATP bioluminescence, air quality, bacterial counts, RCS.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E HIGIÉNICO-SANITARIAS DE LA LECHE DE CIERVA IBÉRICA (*Cervus elaphus hispanicus*)

DE LA VARA, J.A.¹; GARCÍA, A.^{1,2}; LANDETE-CASTILLEJOS, T.^{1,2}; GALLEGRO, L.^{1,2}; MOLINA, A.¹ y BERRUGA, M.I.^{1*}

¹Departamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética, ETSIAM-IDR, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete.

²IREC, Universidad de Castilla-La Mancha, 02071 Albacete.

*mariaisabel.berruga@uclm.es

RESUMEN

El estudio de las propiedades de la leche de nuevas especies está adquiriendo gran interés debido a su potencial bioactividad o a su posible uso en la elaboración de nuevos derivados lácteos. En este trabajo se han evaluado las características físico-químicas e higiénico-sanitarias de la leche de cierva ibérica, y se han comparado con las de oveja y cabra. Los resultados encontrados señalan que la leche de esta especie muestra características similares a las de la leche de oveja tanto en su composición, como en algunas propiedades físicas.

Palabras clave: Ciervo ibérico, cabra, oveja, leche.

INTRODUCCIÓN

La producción de leche de vaca, cabra y oveja representa cercal del 89% de la producción mundial (FAOSTAT, 2015). Las otras dos especies comerciales referidas en las estadísticas FAO, búfala y camélidas, suponen el 11% restante. Sin embargo, otras especies minoritarias desempeñan un importante papel en algunas zonas del planeta debido a su valor nutricional, económico, social o cultural. Este es el caso de la leche de yegua, reno o alce (Medhammar y col., 2012). La leche de éstas u otras especies está despertando gran interés debido a su potencial actividad bioactiva, como es el caso de la leche de équidos o camélidos donde se están caracterizando sus perfiles peptídicos y lipídicos, o su actividad antimicrobiana o antidiabética (Medhammar y col., 2012).

Este es también el caso de la leche de cierva en la que se ha observado que las proteínas séricas y sus péptidos poseen propiedades bioactivas y saludables (Ha y col., 2014), y su digestibilidad es superior a la de la leche de vaca (Opatha Vithana y col., 2012). Asimismo, Ha y col. (2014) han destacado el alto rendimiento de la leche de esta especie para producir queso, debido a su elevado contenido en grasa y caseínas. Algunas experiencias desarrolladas recientemente en Nueva Zelanda (Ashton, 2013) y por nuestro grupo (datos no publicados) destacan rendimientos queseros superiores al 30% y constatan el potencial tecnológico de esta leche para una futura industria láctea.

Aunque esta especie solo se ha explotado para la obtención de carne, velvet actividades cinegéticas en países como Nueva Zelanda o España, están incrementando en los últimos años las expectativas e interés por el desarrollo de granjas lecheras (Ha y col., 2014). Varios autores han abordado el estudio de los componentes principales (Krzywinski y col., 1980; Landete-Castillejos y col., 2000a; 2000b), pero también es importante conocer con más detalle las características físicas e higiénico-sanitarias de la leche de cierva, y evaluar cuán diferente es de la leche de otras especies. Así, el objetivo de este trabajo es el de comparar las propiedades físico-químicas e higiénico-sanitarias de la leche de cierva con las de la leche de oveja y cabra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante 3 semanas, y a intervalos semanales, se obtuvieron muestras de leche de cierva ibérica (*Cervus elaphus hispanicus*), procedentes del ordeño de 3 hembras sanas de la granja experimental de la Universidad de Castilla-La Mancha que se encontraban en mitad de lactación (semanas 6 a 10 después del parto). El ordeño tuvo lugar tal y como describe Landete-Castillejos y col. (2000a). De cada ordeño se alicuotaron 200 mL de leche por animal que se mezclaron para dar lugar a la muestra final (600 mL), conservándose ésta a 4°C hasta su análisis posterior (en las 12 h siguientes al ordeño).

Tres muestras de tanque de leche de oveja (raza Manchega) y cabra (raza Murciano-Granadina), respectivamente, se obtuvieron en el mismo periodo y a intervalos similares en dos explotaciones comerciales situadas en Castilla-La Mancha. El volumen de estas muestras fue de 500 mL y las condiciones de conservación hasta su análisis fueron iguales a las de cierva.

La composición de las muestras (sólidos totales, grasa, proteína y lactosa) se determinó con el equipo MilkoScan 4000 (Foss, Hillerod; Dinamarca)

en el laboratorio interprofesional lácteo de Castilla-La Mancha. El nivel de células somáticas y recuento bacteriano se determinó en el mismo laboratorio mediante los equipos Fossomatic 5000 (Foss) y BactoScan FC (Foss), respectivamente. El pH se determinó con un pHmetro Crison GLP 22 (Crison, Barcelona) adaptado a una sonda 5211 (Crison), y la acidez titulable (Dornic) usando NaOH 0,111 M y fenoftaleína como indicador. La conductividad se determinó con conductímetro Crison Basic 30 con sonda EC 5293 (Crison) y la densidad con un lactodensímetro (Berman, Barcelona) de escala 1,020 to 1,040 g/cm³ a 20±1 °C. La viscosidad de la leche se determinó a 25±0,5 °C con un viscosímetro rotacional digital (Fungilab, Barcelona, modelo Visco Basic Plus L) acoplado al adaptador LCP/B. El color se midió en recipiente de poliestireno de 60 mL (50 mL de muestra) introduciendo el colorímetro 2 mm en el líquido y usando fondo blanco, mediante un colorímetro Minolta CR-400 (Osaka, Japón) con iluminante D65 y observador de 10° (Minolta, Japón), obteniendo las coordenadas L*, a* y b*. La estabilidad al alcohol se midió a temperatura ambiente mezclando volúmenes iguales de leche problema y una solución de etanol (agua/etanol en el rango de 10 a 100% a intervalos de un 2%, v/v), determinando la estabilidad al alcohol de la leche como el valor de la mayor concentración de la solución de etanol que no causó coagulación de la leche. Todas las muestras se analizaron por duplicado. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% con el paquete estadístico SPSS 15.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de composición de la leche de cierva fueron similares a los descritos previamente por Landete-Castillejos y col. (2000b) en similar periodo de la lactación. El contenido en sólidos totales, grasa, proteínas y lactosa de la leche de cierva fue significativamente superior al de la leche de cabra (Tabla 1). No se observaron diferencias significativas entre la leche de cierva y la de oveja, aunque la leche de cierva presentó valores ligeramente superiores. En cuanto al contenido en células somáticas, la leche de cierva mostró niveles inferiores a los de las otras dos especies ($p < 0,001$). El recuento de bacterias totales fue similar en las tres especies (Tabla 1) e inferior al máximo permitido por el Reglamento 853/2004 de la Comisión Europea cuando el destino es la elaboración de productos elaborados con leche cruda.

Los valores medios de pH en cierva (6,55) fueron ligeramente inferiores a los de oveja y cabra aunque no significativos. Krzywinski y col. (1980) señalaron valores en el rango 5,95-7,15 a lo largo de la lactación de 2 ciervas. Cuando se analizó la acidez titulable se observó que la leche de cabra mostraba valores significativamente inferiores (alrededor de

18 °Dornic) a la de cierva u oveja, que presentaron valores superiores a los 23 °Dornic (Tabla 1). Los valores de acidez de oveja y cabra se encontraron dentro de los rangos descritos por Park y col. (2007).

La conductividad media de la leche de cierva (2.65 mS/cm) fue inferior ($p < 0,001$) a la de oveja (3,72 mS/cm) y cabra (4.87 mS/cm), que mostraron valores similares a los descritos en la bibliografía para estas dos especies (Luquet, 1991; Park y col., 2007).

Tabla 1. Parámetros físico-químicos e higiénico-sanitarios de la leche de las tres especies estudiadas (media±sd).

Parámetro	Especie			P
	Cierva (n=3)	Cabra (n=3)	Oveja (n=3)	
Grasa, g/100 g	8,53±0,76 ^a	6,77±0,53 ^b	7,53±0,30 ^{ab}	0,025
Proteína, g/100 g	6,23±0,52 ^a	4,34±0,17 ^b	6,37±0,11 ^a	0,000
Lactosa, g/100 g	4,74±0,04 ^a	4,27±0,15 ^b	4,68±0,09 ^a	0,003
Sólidos totales, g/100 g	20,00±1,09 ^a	16,14±0,67 ^b	19,11±0,35 ^a	0,002
Células somáticas, log células/ml	4,90±0,11 ^a	6,01±0,12 ^b	5,93±0,11 ^b	0,000
Recuento total bacteriano, log células/ml	5,39±0,24	4,87±0,55	5,53±0,99	0,482
pH	6,55±0,11	6,70±0,07	6,64±0,03	0,148
Acidez, °D	23,82±2,56 ^a	18,73±0,38 ^b	26,63±0,55 ^a	0,002
Conductividad, mS/cm	2,41±0,16 ^a	4,87±0,56 ^b	3,72±0,41 ^c	0,001
Densidad, g/cm ³	1,039±0,001 ^a	1,031±0,001 ^b	1,038±0,001 ^a	0,000
Viscosidad, cP	2,65±0,14	2,66±0,20	2,99±0,57	0,467
Coordenada L*	90,07±0,42 ^a	85,01±2,37 ^b	88,31±0,36 ^{ab}	0,012
Coordenada a*	-3,46±0,27 ^a	-1,91±0,08 ^b	-3,07±0,15 ^a	0,000
Coordenada b*	8,14±0,46 ^a	5,59±0,46 ^b	6,71±0,16 ^c	0,000
Estabilidad al alcohol, % v/v	63,37±8,02	56,67±3,06	66,67±3,06	0,134

^{a,b,c} Medias en la misma fila con diferente superíndice difieren significativamente ($P < 0,05$).

Krzywinski y col. (1980) señalaron valores de densidad en leche de cierva en el rango de 1,037-1,041, la densidad media observada en este estudio fue de 1,039 (Tabla 1). La correlación positiva entre la concentración de sólidos totales y la densidad ya ha sido claramente descrita (Luquet y col., 1991), y puede observarse como las dos especies con mayores niveles de sólidos totales (cierva y oveja) presentaron una mayor densidad ($p < 0.001$).

No se observaron diferencias significativas en los valores de viscosidad de ninguna de las especies (Tabla 1). La viscosidad media de la leche de cierva fue de 2,65 cP (Tabla 1). En el caso de la leche de cabra y oveja los valores encontrados fueron similares a los descritos en la bibliografía (Luquet, 1991; Park y col., 2007).

El color de la leche de cierva coincide más con el de la de oveja que con el de cabra (Tabla 1). Esta leche presentó una mayor luminosidad (L^*) que la leche de cabra ($p < 0.012$). La coordenada a^* reveló diferencias con la leche de cabra ($p < 0.001$), mientras que la coordenada b^* fue significativamente superior en la leche de cierva, seguida de la oveja y por último la cabra ($p < 0.001$). En leche de otras especies se ha observado que un mayor contenido en grasa o en proteínas influye positivamente en una mayor luminosidad (Popov-Raljic y col., 2008; Licón y col., 2012).

Las tres especies presentaron valores similares (Tabla 1) de estabilidad al alcohol, aunque en la leche de cabra fue ligeramente inferior. Estos valores fueron superiores a los establecidos como límite aceptable (45°) en el Real Decreto 752/2011 para oveja y cabra.

CONCLUSIONES

Los resultados encontrados señalan que la leche de esta especie muestra características similares a las de la leche de oveja tanto en su composición, como en la mayoría de las propiedades físicas analizadas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado gracias al Proyecto de Investigación PEII-2014-004-P de la JCCM. Los autores agradecen la colaboración a Jesús Miranda.

BIBLIOGRAFÍA

- Ashton, A. 2013. Potential in cheese from deer's milk. Otago Daily Times News. Consultado en octubre 2014. Disponible en: <http://www.odt.co.nz/print/253360>
- Faostat. 2015. Estadísticas de la FAO 2013. Consultado en abril de 2015. Disponible en: <http://faostat3.fao.org>
- Ha, M., Bekhit, A.E., McConnell, M., Mason, S., Carne, A. 2014. Fractionation of whey proteins from red deer (*Cervus elaphus*) milk and comparison with whey proteins from cow, sheep and goats milk. Small Rum. Res. 120, 125-134.
- Krzywinski, A., Krzywinska, K., Kiswa, J., Roskosz, A., Kruk, A. 1980. Milk composition, lactation and the artificial rearing of red deer. Acta Theriol. 25, 341-347.

- Landete-Castillejos, T., García, A., Garde, J., Gallego, L. 2000a. Milk intake and yield curves and allosuckling in captive Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Anim. Behav. 60, 679–687.
- Landete-Castillejos, T., García, A., Molina, P., Vergara, H., Garde, J., Gallego, L. 2000b. Milk production and composition in captive Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*): Effect of birth date. J. Anim. Sci. 78:2771–2777.
- Licon, C.C., Carmona, M., Rubio, R., Molina, A., Berruga, M.I. 2012. Preliminary study of saffron (*Crocus sativus* L. stigmas) colour extraction in a dairy matrix. Dye & Pigments, 92, 1355-1360.
- Luquet, F.M. 1991. Leche y productos lácteos. Vaca, oveja y cabra. Tomo 1. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Medhammar, E., Wijesinha-Bettoni R., Stadlmayr B., Nilsson, E., Charrondiere, U.R., Burlingame, B. 2012. Composition of milk from minor dairy animals and buffalo breeds: a biodiversity perspective. J. Sci. Food Agric. 92, 445-474.
- Opatha Vithana, N. L. 2012. A comparative study of immunomodulatory activity of deer and cow milk proteins. Doctoral Thesis. Lincoln University. 175 pp.
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rum. Res. 68, 88-113.
- Popov-Ralji, J.V., Laki, N.S., Lali-Petronijevi, J.G., Bara, M.B., Sikimi, V.M. 2008. Color changes of UHT milk during storage. Sensors, 8, 5961-5974.

PHYSICO-CHEMICAL AND HYGIENIC-SANITARY CHARACTERISTICS OF IBERIAN RED DEER MILK (*Cervus elaphus hispanicus*)

SUMMARY

Milk from minor species is generating interest because its potential bioactive properties and the possibilities for elaborating new dairy products. This study aims to evaluate the physico-chemical and hygienic-sanitary characteristics of Iberian red deer milk, and to compare against sheep and goat milk. Results revealed that, milk from this species shared similar characteristics to sheep milk in composition and some physical properties.

Key words: Iberian red deer, goat, sheep, milk.

PRINCIPALES GRUPOS BACTERIANOS PRESENTES EN LECHE DE TANQUE EN EXPLOTACIONES OVINAS DE CASTILLA Y LEÓN. PARTE I: DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN

VILLAMEDIANA, R.^{1*}; GONZALEZ, M.G.²; RODRÍGUEZ, L.A.³; BUENO, F.³; DELGADO, D.³; ASENSIO, C.³; ARIAS, R.⁴; PEREZ-GUZMAN, M.D.⁴ y GARZON, A.⁵

¹S. Cooperativa Quesos Cerrato, 34200 Baltanás (Palencia).

²S. Cooperativa Nutecal, 49600 Benavente (Zamora).

³Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León.

⁴Centro Regional de Selección y Reproducción Animal. Av. Vino, 13300 Valdepeñas (C. Real).

⁵Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

*rvillamediana@agropalsc.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es determinar la calidad microbiológica de la leche de tanque con la finalidad de aportar herramientas al sector (queseros, ganaderos y veterinarios) para mejorar la calidad de los productos lácteos elaborados a partir de la leche de oveja. Los recuentos de flora total y de células somáticas (información aportada por los laboratorios interprofesionales) son herramientas muy importantes pero poco específicas para ser utilizadas por los técnicos de campo a la hora de evaluar la eficacia de los sistemas de producción, las prácticas de limpieza y desinfección y el estado sanitario del ganado. Para realizar el estudio se recogieron durante el año 2014 un total de 216 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas, todas ellas pertenecientes a Castilla y León.

Palabras clave: Calidad higiénico-sanitaria, grupos bacterianos, leche oveja.

INTRODUCCIÓN

La calidad de la leche de oveja está influenciada por multitud de factores (sistema de explotación, alimentación, manejo, estado de lactación, etc.) que van a afectar de manera significativa a la calidad de los quesos y productos lácteos. A través de los laboratorios interprofesionales se ha realizado una excelente labor, ya que su principal función consiste en realizar el control de calidad de la leche cruda que se produce en las explotaciones ganaderas. Los resultados obtenidos de estas analíticas son clave para que los productores de leche cruda, los proveedores de producto y el sector industrial negocien el precio final de la leche (Páramo, 2013).

Los recuentos de flora total y de células somáticas (aportados por los laboratorios interprofesionales) son herramientas importantes pero poco específicas para ser usadas por los técnicos a la hora de evaluar la eficacia de los sistemas de producción, de las prácticas de limpieza y desinfección y del estado sanitario general del ganado. Asimismo, tampoco permiten predecir la vida útil de la leche y de los productos lácteos fabricados (De Garnica *et al.*, 2013).

Las bacterias termodúricas, psicrótrofas y coliformes pueden ser indicadores de interés a la hora de evaluar las condiciones higiénicas de la leche, el estado sanitario de la ubre y la seguridad alimentaria (Jarayao, 2004), estando probablemente su presencia relacionada con el recuento de células somáticas y de la flora total.

El objetivo de este trabajo es determinar la calidad microbiológica de la leche de tanque con la finalidad de aportar herramientas al sector (queseros, ganaderos y veterinarios), para mejorar la calidad de los productos lácteos elaborados a partir de la leche de oveja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero y diciembre de 2014 se recogieron un total de 216 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas de Castilla y León (16 de raza Assaf y 2 de raza Churra), todas pertenecientes a la Cooperativa Quesos Cerrato-Nutecal. De cada muestra se obtuvieron cuatro alícuotas, una destinada al análisis microbiológico, otra al análisis físico-químico, otra a la determinación del retinol y la última a los parámetros tecnológicos.

En el laboratorio de microbiología de la Estación Tecnológica de la Leche del ITACyL (Palencia) se realizaron los análisis microbiológicos. Para el recuento de bacterias coliformes se utilizó el medio agar Violeta Rojo

Bilis Lactosa (VRBL) (OXOID, Madrid, España) incubado en condiciones de aerobiosis a 30°C durante 24 horas (ISO 4832, 2006); las colonias presuntivas se confirmaron gracias a su capacidad de fermentar la lactosa mediante el caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (Oxoid, Madrid, España). El recuento de bacterias psicrotróficas se determinó usando el medio Plate Count Agar (PCA) (SCHARLAB, Barcelona, España) incubado en aerobiosis a 6,5°C durante 10 días (ISO 17410, 2001). Para los recuentos de gérmenes totales (RMT) y bacterias termodúricas se empleó el mismo medio de cultivo (PCA) e incubación a 30°C durante 72 horas (APHA, 2004). En el caso de las bacterias termodúricas la muestra se sometió previamente a un choque térmico de 62,8°C durante 30 minutos con el fin de simular un tratamiento equivalente a la pasteurización. Las bacterias termodúricas fueron incubadas igualmente en medio PCA, a 55°C durante 48 horas (APHA, 2004). Para el recuento de estafilococos coagulasa positivo (SCP) se utilizó el Agar Baird Parker RPF (Oxoid, Madrid, España) y las placas se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 48 horas (ISO 6888-2:1999/Amd-1:2003). Finalmente para el recuento de pseudomonas se utilizó el agar Pimaricina-Penicilina (PP) (VWR-PROLABO, Barcelona, España) y las placas se incubaron en aerobiosis a 25°C durante 48 horas (ISO 11059,2009); la confirmación de colonias presuntivas se llevó a cabo mediante el test de la oxidasa (OXOID, Madrid, España) y por su capacidad para fermentar la glucosa (Agar Glucosa Púrpura de Bromocresol (SCHARLAB, Barcelona, España). El recuento de células somáticas de la leche de tanque (RCST) se realizó mediante el método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic FC, Foss Electric) en el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla y León. Posteriormente todos los recuentos bacterianos y los RCST se transformaron en logaritmos decimales (\log_{10}) para obtener una distribución normal, realizándose el tratamiento estadístico mediante el Programa SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las medias de los recuentos (expresados en logaritmos) de los principales grupos bacterianos y los parámetros higiénico-sanitarios de las 216 muestras de leche de tanque procedentes de las 18 explotaciones ovinas estudiadas así como su error estándar (ES), coeficiente de variación (CV) y rango.

Los recuentos medios de gérmenes totales (RMT) ($5,20 \log_{10}$ ufc/ml; equivalencia= 158.489 ufc/ml) indican una buena calidad de la leche de oveja de las ganaderías sometidas al estudio. Estas medias se sitúan en la línea de los resultados documentados por De Garnica *et al.* (2013) en Castilla y León, y en ganaderías con similares sistemas de

producción. Asimismo, este resultado es menor que los publicados para el año 2013 en Castilla y León (RMT= 283.000 ufc/ml) (LILCyL, 2013) o Castilla-La Mancha (RMT= 180.000 ufc/ml) (LILCAM, 2013). Un alto porcentaje de muestras (65%) presentan un RMT<100.000 ufc/ml, y sólo un 12% superarían el rango RMT>1.500.000 ufc/ml, límite fijado para leche cruda destinada a ser tratada térmicamente para la elaboración de productos lácteos (Reglamento CE 853/2004).

Los microorganismos Termófilos son aquellos que crecen adecuadamente en un rango de temperatura entre 45 y 55°C. Muchos de estos gérmenes están en la leche cruda obtenida bajo deficientes condiciones higiénicas, tal como demostraron Oliete *et al.* (2011) y pueden aportar sabores desagradables, acidez y tendencia a que la leche coagule después de la pasteurización. Cabe destacar el alto coeficiente de variación encontrado (CV=159,08) en comparación con el resto de grupos microbianos estudiados, que puede ser explicado por los recuentos tan sumamente bajos. El 59% de las muestras estudiadas no presentan crecimiento de termófilos y un 36% tiene crecimiento $1 \log_{10}$ ufc/ml, lo que en principio indicaría que este grupo microbiano no es relevante en nuestro estudio.

Los microorganismos Termodúricos resisten temperaturas de pasteurización. Estos gérmenes han sido aislados en leche cruda obtenida bajo deficientes condiciones higiénicas, tanto en vacuno (Jayarao *et al.*, 2014) como en ovino (Oliete *et al.*, 2011). Los resultados medios son bajos: 2,66 \log_{10} ufc/ml (equivalencia = 457 ufc/ml). El 35% de las muestras analizadas se encuentran en un rango $\leq 10^2 \log_{10}$ ufc/ml de bacterias termodúricas.

Los microorganismos Psicrótrofos son capaces de multiplicarse a temperaturas de refrigeración. Su estudio es necesario porque muchas de las bacterias de este grupo producen enzimas (lipasas y proteasas fundamentalmente) que pueden provocar graves problemas tecnológicos en los productos lácteos elaborados (Medina *et al.*, 1989). Sus resultados medios son aceptables: 4,93 \log_{10} ufc/ml (equivalencia=85.113 ufc/ml), siendo el grupo microbiano que menor coeficiente de variación presenta. Esto puede ser debido a que la edad de la leche recogida es similar y menor de 3 días desde el ordeño. Un grupo importante dentro de los Psicrótrofos son las Pseudomonas, que pueden provocar coloraciones amarillentas en las pasta de los quesos y alguna especie (*Pseudomonas aeruginosa*) son patógenos oportunistas para la especie humana. Los resultados medios son relevantes: 4,54 \log_{10} ufc/ml (equivalencia = 34.673 ufc/ml), ya que representarían el 92% del total de microorganismos Psicrótrofos.

Tabla 1. Recuentos de los principales grupos microbianos (\log_{10} ufc/ml) y del recuento de células somáticas (\log_{10} cel/ml) en leche de tanque.

	Media	ES	CV	Rango
RMT	5,20	0,04	12,31	4,11-6,47
Termófilos	0,33	0,03	159,08	0,04-3,41
Termodúricos	2,66	0,99	37,34	0,30-5,54
Psicrotrofos	4,93	0,08	24,49	2,00-7,69
Pseudomonas	4,54	0,08	28,25	2,00-7,30
Coliformes	2,61	0,07	39,66	0,00-5,61
SCP	1,64	0,05	50,24	0,69-4,90
RCST	6,03	0,02	4,85	5,19-6,77

El grupo de microorganismos Coliformes es un excelente indicador de la contaminación fecal y del grado de higiene durante el ordeño (Pantoja *et al.* 2011), pudiendo provocar en los quesos elaborados con leche cruda la llamada “hinchazón temprana”, alteración que provoca la formación de grietas y cavidades en la masa del queso. Los resultados medios son aceptables: 2,61 \log_{10} ufc/ml (equivalencia = 407 ufc/ml), y un 40% de las muestras analizadas presentan recuentos de coliformes $\leq 10^2$ ufc/ml.

El grupo de Estafilococos Coagulasa Positivos (SCP), desde el punto de vista de la salud pública, tiene especial relevancia por la producción de toxinas termoresistentes que pueden provocar graves procesos de gastroenteritis. Desde el punto de vista de la sanidad mamaria, son los microorganismos responsables de un gran número de mamitis clínicas agudas en el ganado ovino lechero. Los resultados medios en este estudio son: 1,64 \log_{10} ufc/ml (equivalencia = 43 ufc/ml). El 35% de las muestras analizadas presentan un recuento muy bajo (≤ 10 ufc/ml) y solo un 7% de las muestras tiene recuentos $> 10^3$ ufc/ml. Tan sólo en una ganadería se ha encontrado recuentos por encima de este rango en más de una muestra, evidenciando el carácter errático de secreción discontinua de este germen en los animales afectados.

CONCLUSIONES

1. La determinación y cuantificación de los grupos microbianos de leche de tanque cobra cada vez mayor relevancia para establecer criterios de eficacia en los procesos productivos en relación a la higiene y sanidad de la producción lechera ovina, pudiéndose convertir en una herramienta de auxilio en la toma de decisiones por parte de los veterinarios de explotación.

2. Los análisis bacteriológicos de leche de tanque podrían formar parte del criterio de pago de la leche por parte de las industrias lácteas, debido a su influencia en la calidad del queso y/o los productos lácteos obtenidos a partir de ella.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado dentro del proyecto IDI PRE/917/2013 financiado por el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, en el desarrollo de los contrato de Investigación entre el ITACYL, el CERSYRA de Valdepeñas y el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba con las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal.

BIBLIOGRAFÍA

- De Garnica, M.L., Linage, B., Carriedo, J.A., De la Fuente, L.F., Garcia-Jimeno, M.C., Santos, J.A. and Gonzalo, C., (2013). Relationship among specific bacterial counts and total bacterial and somatic cell and factors influencing their variation in ovine bulk tank milk. *J. Dairy Sci.*, 96, 1021-1029.
- Medina, M. y Gaya, P. 1989. Flora microbiana de la leche de oveja. *OVIS. Tratado de patología y producción ovina.* Mayo 1989 nº 2, pp 21-27.
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. (2002). Mammary pathogens and their relationship with somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J. Dairy Sci.*, 85: 1460-1467 pp.
- Jayarao, B.M., Pillai, S.R., Sawant, A.A., Wolfgang, D.R. and Hegde, N.V. (2014). Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. *J. DairySci.* 87:3561-3573 pp.
- LILCAM (2013). Comunicación personal.
- LILCyL. (2013). Comunicación personal.
- Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J. and Ruegg, P.L. (2011). Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *J. DairySci.* 94: 2680-2691 pp.
- Páramo, A (2013). Evolución de la calidad de la leche de oveja en Castilla y León en los últimos 20 años: el reto de la mejora. *Tierras Ovino –Pequeños Rumiantes*, 4: 8-19.
- Oliete, B., Arias, R., Garzón, A., Jimenez, L., Romero, J., Arias, C., Calatayud, J.R. y Perez-Guzmán, M.D. (2011). Variación del recuento de diferentes grupos de microorganismos en la leche de tanque de oveja manchega en relación con las condiciones higiénicas de las ganaderías. Resultados preliminares. XXXVI Congreso de la SEOC 2011. Actas del Congreso 181-184 pp.

MICROBIAL MAJOR GROUPS OF MILK TANK IN SHEEP FARM OF CASTILLA Y LEON. PART I: DETERMINATION AND QUANTIFICATION

SUMMARY

The aim of this study was to determine the microbiological quality of the milk tank with the aim of providing tools to sector (cheesemakers, farmers and veterinarians) to improve the quality of dairy products made from sheep's milk. The counts of total flora and somatic cell count (reported by the inter-laboratory) are very important tools but little specific for use by field technicians when evaluating the effectiveness of production systems, cleaning practices and disinfection and health of livestock. For the study a total of 216 tank milk samples from 18 sheep farms were collected during 2014, all belonging to Castilla y Leon.

Key words: Hygienic-sanitary quality, bacterial groups, sheep milk.

PRINCIPALES GRUPOS BACTERIANOS DE LECHE DE TANQUE EN EXPLOTACIONES OVINAS DE CASTILLA Y LEÓN. PARTE II: RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS HIGIÉNICO-SANITARIOS

VILLAMEDIANA, R.^{1*}; GONZALEZ, M.G.²; RODRÍGUEZ, L.A.³; BUENO, F.³; DELGADO, D.³; ASENSIO, C.³; ARIAS, R.⁴; PEREZ-GUZMAN, M.D.⁴ y GARZON, A.⁵

¹S. Cooperativa Quesos Cerrato, 34200 Baltanás (Palencia).

²S. Cooperativa Nutecal, 49600 Benavente (Zamora).

³Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León.

⁴Centro Regional de Selección y Reproducción Animal. Av. Vino, 13300 Valdepeñas (Ciudad Real).

⁵Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

*rvillamediana@agropalsc.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es relacionar los grupos bacterianos presentes en la leche de tanque con los recuentos de gérmenes totales (RMT) y de células somáticas totales (RCST). Se pretende explicar la aparición en mayor o menor grado de estos microorganismos y su relación con los principales condicionantes de la higiene y manejo de la producción láctea ovina. Para realizar el estudio se recogieron durante el año 2014 un total de 216 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas, todas ellas pertenecientes a cooperativas de Castilla y León.

Palabras clave: Calidad higiénico-sanitaria, grupos microbianos, leche oveja.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la producción de leche ovina en España ha experimentado importantes cambios, muy influenciados por la introducción de razas foráneas muy productoras y por la mejora genética, que ha provocado un aumento de la cantidad de leche producida en las explotaciones. También se ha visto favorecida por la mejora e intensificación de los sistemas de producción y sobre todo por una creciente demanda de leche de calidad por parte de las industrias queseras (Rodríguez, 2013a).

Si bien la producción de leche de oveja se ha visto incrementada notablemente, conviene establecer una calidad diferenciada no solo desde el punto de vista físico-químico, sino también higiénico-sanitario, microbiológico y tecnológico, que aporte valor añadido tanto a la empresa receptora como al ganadero productor. Por todo ello se plantearían tres axiomas que deberían regir las actuaciones de los veterinarios de campo: (1) la seguridad alimentaria en la producción láctea es innegociable, (2) apostar por la calidad es apostar por el futuro y (3) la calidad la hacen las personas (Rodríguez, 2013b).

La calidad higiénico-sanitaria de la leche ha sido estudiada desde distintos aspectos y por distintos autores. Jiménez *et al.* (2011) consideran que el recuento de gérmenes totales (RMT) es el parámetro normalmente empleado en los sistemas de control de calidad, mientras que el recuento de células somáticas totales (RCST) es considerado un índice adecuado para evaluar la sanidad mamaria del rebaño (Gonzalo *et al.*, 2002). Estos dos parámetros están fuertemente correlacionados (Oliete *et al.*, 2010), aunque en la actualidad el valor RMT es cuestionado por ser un parámetro poco específico, lo que hace necesario evaluar la carga microbiana diferencial en la ganaderías de ovino lechero.

Autores como Jarayao *et al.* (2004) aportaron directrices para la monitorización de la leche cruda de tanque mediante el recuento de células somáticas, de gérmenes totales y de distintos grupos microbianos en vacuno. Por otra parte, De Garnica *et al.* (2013) estudiaron las relaciones entre recuentos bacterianos específicos y los recuentos totales, así como el recuento de células somáticas y los factores que influyen sobre su variación en leche de oveja de tanque.

El objetivo de este trabajo es relacionar los recuentos de diferentes grupos microbianos de la leche de tanque de oveja con los parámetros higiénico-sanitarios (RMT y RCST) utilizados en la actualidad para monitorizar la calidad de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero y diciembre de 2014 se recogieron un total de 216 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas (16 de raza Assaf y 2 de Churra), todas pertenecientes a las mismas cooperativas, y distribuidas por Castilla y León. De cada muestra se obtuvieron distintas alícuotas, una destinada al análisis microbiológico y otra al recuento de células somáticas.

En el laboratorio de microbiología de la Estación Tecnológica de la Leche del ITACyL (Palencia) se realizaron los análisis microbiológicos. Para los recuentos de gérmenes totales (RMT) y bacterias termodúricas se empleó el mismo medio de cultivo (PCA) e incubación a 30°C durante 72 horas (APHA, 2004). En el caso de las bacterias termodúricas la muestra se sometió previamente a un choque térmico de 62,8°C durante 30 minutos con el fin de simular un tratamiento equivalente a la pasteurización. Las bacterias termodúricas fueron incubadas igualmente en medio PCA, a 55°C durante 48 horas (APHA, 2004). Para los recuentos de los diferentes grupos bacterianos se utilizaron métodos normalizados basados en normas internacionales: Coliformes (Norma ISO 4832 de 2006), Psicrotrofos (Norma ISO 17410 de 2001), Estafilococos Coagulasa Positivo (SCP) (Norma ISO 6888-2 de 1999 y de 2003) y *Pseudomonas* spp (Norma ISO/TS 11059 de 2009). Se aplicó el logaritmo decimal a los recuentos para así obtener una distribución normal de los datos. El recuento de células somáticas de la leche de tanque (RCST) se realizó mediante el método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic FC, Foss Electric) en el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla y León.

Los resultados obtenidos se procesaron usando el paquete estadístico SAS. Se realizó un análisis de correlaciones de Pearson entre los recuentos de los distintos grupos bacterianos, con RMT y RCST.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las correlaciones entre los grupos diferenciales de microorganismos en leche de oveja con RMT y RCS se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Correlaciones entre los recuentos de los grupos microbianos con los parámetros higiénico-sanitarios (RMT y RCST) de leche de tanque (\log_{10} ufc/ml).

	Termófilos	Termodúricos	Psicrotrofos	Pseudomonas	Coliformes	SCP	RCST
RMT	-0,03 ^{NS}	0,23 ^{**}	0,66 ^{***}	0,68 ^{***}	0,48 ^{**}	0,18 ^{**}	0,29 ^{***}
Termófilos	1	0,24 ^{**}	0,03 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,00 ^{NS}	-0,04 ^{NS}	-0,02 ^{NS}
Termodúricos		1	0,21 ^{**}	0,17 [*]	0,22 ^{**}	-0,01 ^{NS}	-0,04 ^{NS}
Psicrotrofos			1	0,92 ^{***}	0,60 ^{***}	0,18 ^{**}	0,28 ^{**}
Pseudomonas				1	0,66 ^{***}	0,21 ^{**}	0,23 ^{**}
Coliformes					1	0,18 ^{**}	0,04 ^{NS}
SCP						1	0,09 ^{NS}
RCST							1

***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; NS: $p \geq 0,05$

RMT: Recuento de gérmenes totales a 30°C; RCST: Recuento de células somáticas;

SCP: *Estafilococos coagulasa positivos*.

RMT mantienen una correlación con RCST, $r=0,29$, positiva y significativa ($p < 0,001$), de forma similar a los trabajos publicados por Gonzalo *et al.* (2006) y Arias (2009), que demuestran la relación entre los dos parámetros higiénico y sanitario utilizados habitualmente en los sistemas de control de calidad de la leche. Esto indicaría que el estado sanitario de los rebaños tiene una especial repercusión sobre los RMT.

En cuanto a las relaciones de RMT con los grupos microbianos estudiados, salvo con gérmenes Termófilos, destacan las correlaciones, positivas y significativas ($p < 0,001$) entre éste y los recuentos de Psicrotrofos ($r=0,66$) y de Pseudomonas ($r=0,68$). Esto revelaría la importancia de estos gérmenes en el recuento total, indicando la relevancia de las prácticas higiénicas sobre el RMT y la problemática de un mantenimiento excesivo de la leche en el tanque de refrigeración (más de dos días en refrigeración), lo que haría incrementar de manera notable este grupo bacterianos (Medina *et al.*, 1989; Oliete *et al.*, 2011)

Es interesante destacar la existencia de una correlación también positiva ($r=0,48$) y significativa ($p < 0,01$) entre RMT y Coliformes, indicando que las bacterias relacionadas con la contaminación de origen ambiental-fecal repercuten en la cantidad de mésofilos totales.

Destacar también que el grupo Termodúricos es el único que mantiene correlación significativa con los microorganismos Termófilos ($r=0,24$), que se han relacionado con la higiene de la sala de ordeño (Oliete *et al.*, 2011).

Por otra parte, se muestra una correlación baja ($r=0,18$), aunque significativa ($p<0,01$) entre en el RMT y estafilococos coagulasa positivos (SCP), que podría revelar su interés en analizar este tipo de gérmenes desde el punto de vista de la calidad sanitaria de la leche. Como ya se ha comentado los RCST muestran una correlación con los RMT, pero paradójicamente, no existen correlaciones entre el recuento de RCST y el de SCP. Esta razón podría deberse a que la población de SCP puede estar presente de forma permanente en la ganadería sin evidenciar síntomas clínicos, ni respuesta inflamatoria, por lo que en estas circunstancias no habría altos recuento celulares.

Cabe destacar la correlación positiva y significativa ($p<0,01$) de RCST con Psicrotrofos ($r=0,28$) y *Pseudomonas* ($r=0,23$), lo que evidenciaría que alguno de los géneros pertenecientes a este grupo podrían estar implicados en casos de mamitis subclínicas con apariciones inferiores al 3% tal y como señalan Esnal *et al.* (2008) en el caso de los *Bacillus* spp y *Pseudomonas* spp o incluso, en algunos casos, ocasionar brotes de mamitis clínicas producidas por *Pseudomonas aeruginosa* (Las Heras *et al.*, 2001). Sería interesante revisar el origen de las fuentes de contaminación de *Pseudomonas* como por ejemplo, el agua de las explotaciones estudiadas y su posible relación con las mamitis y el incremento de los RCST.

CONCLUSIONES

1. El RMT muestra correlaciones positivas y significativas con todos los grupos bacterianos estudiados excepto con microorganismos Termófilos, por lo que convendría estudiar este grupo de gérmenes relacionado con las condiciones higiénicas del ordeño.
2. El RCST muestra correlaciones positivas y significativas con Psicrotrofos y *Pseudomonas*, evidenciando la relación de estos grupos diferenciales con las infecciones intramamarias en ovino lechero.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado dentro del proyecto IDI PRE/917/2013 financiado por el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, en el desarrollo de los contrato de Investigación entre el ITACYL, el CERSYRA de Valdepeñas y el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba con las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal.

BIBLIOGRAFÍA

- Arias, R. (2009). Recuento de células somáticas y calidad de la leche de oveja en Castilla-La Mancha. Tesis Doctoral. 211 pp.
- Esnaola, A., Marco, J.C., Escobal, I., Extramiana, A.B. y Elorriaga, M. (2008). Etiología de las mastitis en el ganado ovino lechero (I). Diferencias en la distribución de los patógenos mamarios en función de su presentación clínica o subclínica. XXXIII Jornadas Científicas y xii Internacionales de la SEOC. Almería (España).
- De Garnica, M.L., Linage, B., Carriedo, J.A., De la Fuente, L.F., Garcia-Jimeno, M.C., Santos, J.A. and Gonzalo, C. (2013). Relationship among specific bacterial counts and total bacterial and somatic cell and factors influencing their variation in ovine bulk tank milk. *J. Dairy Sci.*, 96, 1021-1029.
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. (2002). Mammary pathogens and their relationship with somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J. Dairy Sci.*, 85: 1460-1467 pp.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Beneitez, E., Juárez, M.T., De la Fuente, L.F., San Primitivo, F. (2006). Short communication: Bulk Tank Total Bacterial Count in Dairy Sheep: Factors of Variation and Relationship with Somatic Cell Count. *J. Dairy Sci.*, 89: 549-552.
- Jimenez, L., Oliete, B., Garzón, A., Romero, J., Arias, C., Calatayud, J.R., Perez-Guzmán, M.D. y Arias, R. (2011). Relación de los parámetros tecnológicos de leche de tanque de oveja manchega con su composición y carga microbiana. Resultados preliminares. XXXVI Congreso SEOC 2011. Actas del Congreso, 176-180 pp.
- Jayarao, B.M., Pillai, S.R.; Sawant, A.A., Wolfgang, D.R. and Hegde, N.V. (2004). Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. *J. Dairy Sci.* 87:3561-3573 pp.
- Las Heras, A.; Vela, A.I.; Fernandez Riera, E.; Casmayor, A.; Fernández-Garayzabal, J.F. y Dominguez Rodriguez, L. (2001). Caracterización molecular de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de mastitis ovinas. XXVI Jornadas Científicas y V Internacionales de la SEOC. Sevilla (España).
- Medina, M. y Gaya, P. 1989. Flora microbiana de la leche de oveja. OVIS. Tratado de patología y producción ovina. Mayo 1989 nº 2, pp 21-27
- Oliete, B., Calatayud, M., García, O., Arias, C., Gallego, R., Arias, R., Pérez-Guzmán, M.D. (2010) Efecto de las condiciones higiénico-sanitarias sobre el recuento de células somáticas y microorganismos totales de la leche de oveja Manchega. XXXV Congreso SEOC. Actas del Congreso 50-55.
- Oliete, B.; Arias, R.; Garzón, A.; Jimenez, L.; Romero, J.; Arias, C.; Calatayud, J.R. y Perez-Guzmán, M.D. (2011). Variación del recuento de diferentes grupos de microorganismos en la leche de tanque de oveja manchega en relación con las condiciones higiénicas de las ganaderías. Resultados preliminares. XXXVI Congreso de la SEOC 2011. Actas del Congreso 181-184 pp.
- Rodríguez, L.A. (2013a). Análisis de la rentabilidad de las explotaciones de ovino de leche en Castilla y León. Tesis doctoral. Universidad de León. León (España).
- Rodríguez, L.A. (2013b). Calidad de la leche de oveja: valoración y estrategias. *Tierras Ovino-Pequeños Rumiantes*, 4: 4-5.

BACTERIAL MAJOR GROUPS PRESENT IN MILK TANK IN SHEEP FARM OF CASTILLA Y LEON. PART II: RELATIONSHIP WITH HIGIENIC-HEALTH QUALITY OF THE SAME

SUMMARY

The aim of this paper is to relate the bacterial groups present in the milk tank with total counts germs (RMT) and total somatic cells (RCST). It is intended to explain the appearance lesser or less of these organisms and their relationship to the main determinants of health and management of sheep milk production. For the study a total of 216 tank milk samples from 18 sheep farms were collected during 2014, all belonging to cooperatives of Castilla y León.

Key words: Hygienic-sanitary quality, microbial groups, sheep milk.

VILLAMEDIANA, R.^{1*}; GONZALEZ, M.G.²; RODRÍGUEZ, L.A.³;
BUENO, F.³; DELGADO, D.³; ASENSIO, C.³; PEREZ-GUZMAN, M.D.⁴;
JIMÉNEZ, L.⁴; GARZON, A.⁵ y ARIAS, R.⁴

¹S. Cooperativa Quesos Cerrato, 34200 Baltanás (Palencia).

²S. Cooperativa Nutecal, 49600 Benavente (Zamora).

³Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León.

⁴Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA). Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha. Valdepeñas.

⁵Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

*rvillamediana@agropalsc.com

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es el estudio de distintos factores de variación de los parámetros higiénico-sanitarios de la leche de tanque de las ganaderías de ovino, con el fin de ayudar a optimizar sus sistemas de control de calidad. Este trabajo se ha realizado en explotaciones de ovino lechero de Castilla y León, pertenecientes a dos cooperativas con sistemas de explotación diferenciados. Los resultados indican que tanto el tipo de sistema de explotación, la ganadería y su nivel productivo afectan a una serie de parámetros higiénico-sanitarios, mientras que el uso de ensilados en la alimentación de las ovejas de ordeño no presenta influencia sobre ellos. Como conclusión, indicar que los Programas de Prácticas Correctas, especialmente en las ganaderías más intensivas, deberán optimizar sus protocolos de limpieza y desinfección, así como los sistemas de control de la sanidad mamaria.

Palabras clave: leche, calidad, oveja.

INTRODUCCIÓN

La calidad de la leche se plantea como uno de los objetivos prioritarios de las ganaderías de ovino lechero, máxime en un contexto de continua evolución de sus sistemas de explotación, en aras de un aumento en la producción de leche. Teniendo en cuenta que la producción primaria debe asegurar sus producciones, tanto desde el punto de vista de la salud pública como de la sanidad animal (Reglamento CE 853/2004), se plantea como objetivo de este trabajo el estudio de distintos factores de variación de los parámetros higiénico-sanitarios de la leche de tanque de las ganaderías de ovino, con el fin de ayudar a optimizar sus sistemas de control de calidad de la leche, cuyo destino principal es la producción de queso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero y diciembre de 2014 se recogieron un total de 216 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas de Castilla y León (16 de raza Assaf y 2 de raza Churra), todas pertenecientes a las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal. En el laboratorio de microbiología de la Estación Tecnológica de la Leche del ITACyL (Palencia) se realizaron los análisis microbiológicos. Para el recuento de bacterias coliformes se utilizó el medio agar Violeta Rojo Bilis Lactosa (VRBL) (OXOID, Madrid, España) incubado en condiciones de aerobiosis a 30°C durante 24 horas (ISO 4832, 2006). El recuento de bacterias Psicrotófas se determinó usando el medio Plate Count Agar (PCA) (SCHARLAB, Barcelona, España) incubado en aerobiosis a 6,5°C durante 10 días (ISO 17410, 2001). Para los recuentos de bacterias Termódúricas se empleó el mismo medio de cultivo (PCA) e incubación a 30°C durante 72 horas (APHA, 2004). En este caso la muestra fue sometida a un choque térmico previo de 62,8°C durante 30 minutos, con el fin de simular un tratamiento equivalente a la pasteurización. Las bacterias Termófilas fueron incubadas igualmente en medio PCA, a 55°C durante 48 horas (APHA, 2004). Para el recuento de Estafilococos Coagulasa Positivos (SCP) se utilizó el Agar Baird Parker RPF (OXOID, Madrid, España) y las placas se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 48 horas (ISO 6888-2:1999/Amd-1:2003). Finalmente para el recuento de Pseudomonas se utilizó el agar Pimaricina-Penicilina (PP) (VWR-PROLABO, Barcelona, España) y las placas se incubaron en aerobiosis a 25°C durante 48 horas (ISO 11059,2009). El Recuento de Mesófilos Totales (RMT) se realizó con un equipo automatizado Bactoscan y el Recuento de Células Somáticas (RCST) mediante un equipo Fossomatic FC (Foss Electric, Barcelona, España), en el Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla y León. Los resultados obtenidos del RCST y de los

principales grupos microbianos se han transformado en logaritmos decimales. Se ha realizado un análisis GLM con el programa estadístico SAS, elaborando el siguiente modelo: $Y_{ijklmn} = \mu + SIST_i + GA(SIST)_{j(i)} + ENSI_k + b_1LECHE_{ijk} + e_{ijkl}$. Donde: Y_{ijklmn} = variable estudiada (RCST, RMT, Termófilos, Termodúricos, Psicrótrofos, Pseudomonas, Coliformes, SCP); μ = media general; $SIST_i$ = efecto fijo del tipo de sistema de explotación (intensivo o de estabulación permanente; semiintensivo, en el que no pastorean las ovejas de ordeño, de parto o la reposición; extensivo, en el que pastorean todos los efectivos independientemente de su estado productivo); $GA(SIST)_{k(i)}$ = efecto fijo de la ganadería (18), jerarquizada al tipo de sistema de explotación; $ENSI_j$ = efecto fijo del uso de ensilado (sí y no uso de ensilado en la alimentación de las ovejas de ordeño); $LECHE_k$ = efecto de la producción mensual de leche (L) por ganadería, considerada como covariable; e_{ijkl} = error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el modelo estadístico se ha estimado la influencia de los factores tipo de sistema de explotación, ganadería, utilización de ensilado para la alimentación de las ovejas en ordeño y la producción de leche de la ganadería, cuyos resultados se recogen en la Tabla 1. Se aprecia claramente como el factor ganadería se muestra significativo ($p < 0,001$) para la gran mayoría de los parámetros higiénico-sanitarios de leche de tanque de ovino lechero, salvo para los microorganismos Termófilos. Gonzalo *et al.* (2006) muestran también el efecto significativo sobre el RMT y el RCST. Por su parte el efecto producción de leche de la ganadería se muestra significativo para los siguientes parámetros (RCST, RMT y Pseudomonas: $p < 0,001$; Psicrótrofos: $p < 0,01$); De Garnica *et al.* (2013) indican también este efecto sobre RMT y RCST. El tipo sistema de explotación de la ganadería tiene influencia significativa sobre el RMT ($p < 0,001$), distinguiéndose igualmente para los parámetros relacionados con la sanidad mamaria: RCST ($p < 0,001$) y SCP ($p < 0,01$), así como para un parámetro interesante desde el punto de vista de la calidad higiénica de la leche: Coliformes ($p < 0,001$).

Por otra parte, el uso de ensilado en la alimentación de las ovejas de ordeño no revela su influencia sobre ninguno de los parámetros higiénico-sanitarios estudiados. En la Tabla 2 se muestran los resultados de los recuentos de estos parámetros, en los que no aparecen diferencias significativas entre ellos, evidenciando que los ensilados utilizados por estas ganaderías no son relevantes sobre la calidad higiénico-sanitaria de la leche.

La Tabla 3 expone los resultados de recuentos de los parámetros higiénico-sanitarios en función del tipo de explotación definido para

cada ganadería. En cuanto a los parámetros más generales se observa como el RCST es significativamente menor para sistemas más intensivos, mientras que este sistema de explotación muestra mayores niveles de RMT. En esta misma línea se comportan importantes grupos microbianos respecto a la calidad de la leche, es decir, con menores recuentos en los sistemas extensivos. Estos grupos son: Pseudomonas, gérmenes que su crecimiento puede verse favorecido por las temperaturas de refrigeración, y que pueden plantear problemas tanto desde el punto de vista tecnológico (coloraciones anormales de los quesos), como por ser patógenos oportunistas de la especie humana, cuyas diferencias se deberían a la conservación de la leche en cada ganadería y a diferencias en las prácticas de ordeño (San Juan *et al.*, 2003); Coliformes, microorganismos que son considerados testigos de falta de higiene en distintos sistemas de control de calidad de la leche (Pirisi *et al.*, 2007), y que también pueden ocasionar deficiencias tecnológicas como la hinchazón temprana en quesos; SCP, gérmenes causantes de mamitis clínicas, y que pueden producir toxinas termoresistentes peligrosas para la salud humana. En este sentido, las ganaderías deberían extremar las medidas de prevención y control de mamitis: manejo del ordeño, desinfección de pezones postordeño, tratamientos de secado, etc.

Tabla 1. Test de significación y porcentajes de la varianza explicada de los diferentes efectos sobre el recuento de células somáticas y de los principales grupos microbianos en leche de tanque.

Variable		Factores de variación			
		Sistema explotación	Ganadería (Sistema)	Ensilado	Leche
RCST	F	19,47***	16,99***	0,04 ^{NS}	18,32***
R ² =0,73	%VE	5,65	39,47	0,06	2,66
RMT	F	7,39**	5,45***	0,03 ^{NS}	35,97***
R ² =0,43	%VE	5,65	39,47	0,06	2,66
Termófilos	F	0,29 ^{NS}	1,29 ^{NS}	0,14 ^{NS}	0,07 ^{NS}
R ² =0,11	%VE	0,28	10,17	0,07	0,04
Termodúricos	F	0,71 ^{NS}	8,99 ***	2,30 ^{NS}	0,00 ^{NS}
R ² =0,45	%VE	0,43	43,43	0,69	0,00
Psicrótrofos	F	1,81 ^{NS}	6,65***	0,73 ^{NS}	13,26**
R ² =0,44	%VE	1,13	32,99	0,24	4,11
Pseudomonas	F	5,41**	5,84***	0,68 ^{NS}	17,35***
R ² =0,42	%VE	3,50	30,25	0,22	5,62
Coliformes	F	14,10***	9,79***	1,28 ^{NS}	0,90 ^{NS}
R ² =0,55	%VE	7,01	38,93	0,32	0,22
SCP	F	9,27**	3,91***	0,07 ^{NS}	0,39 ^{NS}
R ² =0,36	%VE	6,57	22,18	0,02	0,14

***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$ ^{NS}: $p > 0,05$

VE: Varianza explicada

Tabla 2. Efecto del uso de ensilado sobre el recuento de células somáticas (\log_{10} cel/ml) y de los principales grupos microbianos (\log_{10} ufc/ml) en leche de tanque.

	Uso de ensilado	
	No	Si
RCST	6,07±0,02	6,08±0,02
RMT	5,09±0,08	5,12±0,10
Termófilos	0,38±0,09	0,31±0,10
Termodúricos	2,81±0,12	2,45±0,15
Psicrótrofos	4,98±0,15	4,73±0,18
Pseudomonas	4,54±0,17	4,28±0,20
Coliformes	2,67±0,12	2,41±0,14
SCP	1,49±0,11	1,54±0,13

Tabla 3. Efecto del sistema de explotación sobre el recuento de células somáticas (\log_{10} cel/ml) y de los principales grupos microbianos (\log_{10} ufc/ml) en leche de tanque.

	Sistema de explotación		
	Intensivo	Semi-intensivo	Extensivo
RCST	5,94±0,01 ^c	6,10±0,03 ^b	6,19±0,03 ^a
RMT	5,33±0,06 ^a	5,17±0,10 ^a	4,81±0,10 ^b
Termófilos	0,34±0,06	0,29±0,11	0,40±0,10
Termodúricos	2,77±0,09	2,53±0,15	2,60±0,15
Psicrótrofos	4,94±0,11	5,04±0,19	4,59±0,18
Pseudomonas	4,70±0,12 ^a	4,66±0,21 ^a	3,89±0,20 ^b
Coliformes	2,71±0,09 ^a	2,95±0,15 ^a	1,95±0,14 ^b
SCP	1,83±0,08 ^a	1,65±0,14 ^a	1,07±0,13 ^b

Superíndices distintos ^{a, b}: $p < 0,05$

CONCLUSIONES

El tipo de sistema de explotación tiene una influencia significativa sobre parámetros sanitarios (RCST) e higiénicos (RMT, Pseudomonas, Coliformes y SCP) de la leche de oveja. Los Programas de Prácticas Correctas de las ganaderías de ovino lechero, especialmente de las más intensivas, deberían optimizar sus protocolos de limpieza y desinfección, así como los sistemas de control de la sanidad mamaria.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado dentro del proyecto IDI PRE/917/2013 financiado por el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, en el desarrollo de los

contrato de Investigación entre el ITACYL, el CERSYRA de Valdepeñas y el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba con las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, 2004. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. H.M. Wher and J.F. Frnk. American Public Health Association. 570 pp.
- De Garnica, M.L., Linage, B., Carriedo, J.A., De la Fuente, L.F., Garcia-Jimeno, M.C., Santos, J.A. and Gonzalo, C., 2013. Relationship among specific bacterial counts and total bacterial and somatic cell and factors influencing their variation in ovine bulk tank milk. *J. Dairy Sci.*, 96, 1021-1029.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Beneitez, E., Juárez, M.T., De la Fuente, L.F., San Primitivo, F., 2006. Short communication: Bulk Tank Total Bacterial Count in Dairy Sheep: Factors of Variation and Relationship with Somatic Cell Count. *J. Dairy Sci.*, 89: 549-552.
- Pirisi, A., Lauret, A., Dubeuf, J.P., 2007. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Rum. Res.*, 68: 167-178.
- Reglamento CE nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. (DO L 139 de 30.4.2004, p. 55/205).
- San Juan, S., Rúa, J., García-Armesto, M.R., 2003. Microbial flora of technological interest in raw ovine milk during 6°C storage. *International Journal of Dairy Technology*. Vol 56, nº 3: 143-148.

VARIATION OF SANITARY AND HYGIENIC QUALITY OF MILK IN CASTILLA LEÓN SHEEP FARMS

SUMMARY

The aim of this work is the study of variation factors of health and hygiene parameters milk bulk tank from sheep farms, helping optimize their quality system control. This work was performed in sheep dairy farms in Castilla y León, belonging to two cooperatives but with different operating systems. The results indicate that the operating system type, the farm and livestock production levels affect a range of health and hygiene parameters, while the use of silage in the diet of milking sheep had no influence over them. In conclusion, Correct Practices Programs, especially in more intensive farms, must optimize their cleaning and disinfection protocols and control systems of breast health.

Key words: Milk, quality, sheep.

OPTIMIZACIÓN DE UN BIOENSAYO CON *Bacillus subtilis* PARA LA DETECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE DE CABRA

GIRALDO, J.^{1*}; NAGEL, O.²; BELTRÁN, M.C.¹; MOLINA, M.P.¹ y ALTHAUS, R.L.²

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

²Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Argentina.

*jengigme@etsia.upv.es

RESUMEN

Se optimizó un bioensayo para la detección de antibióticos utilizados con gran frecuencia en ganado caprino lechero. Para ello, se propuso un diseño factorial (4x2) que permitiese evaluar el efecto de la concentración de esporas de *Bacillus subtilis* (Log [E]: 7; 7,4; 7,7 y 7,9) y la concentración de trimetoprim (TMP: 450 y 500 µg/kg) sobre la especificidad y los límites de detección de antibióticos del método en leche de cabra. Se utilizó medio de cultivo Mueller Hinton (38 g/L) fortificado con glucosa (10 g/L), azul de toluidina (20 mg/kg) y trifeniltetrazolium (150 mg/kg). La especificidad del bioensayo se calculó analizando 96 muestras individuales de leche de cabra libres de antibióticos y los límites de detección se obtuvieron mediante el análisis de 12 repeticiones de 8 concentraciones de eritromicina, enrofloxacina y sulfametacina. La especificidad del bioensayo fue elevada (93-97%), correspondiendo el máximo valor alcanzado a las microplacas con 450 µg/kg de TMP y Log [E]≥7,7. Sin embargo, los mejores límites de detección (LD) se obtuvieron con las microplacas con la menor concentración de esporas (Log [E]=7). La función deseabilidad indica que un bioensayo elaborado con 454 µg/kg de TMP y 1x10⁷ esporas/mL (Log [E]=7) de *B. subtilis*, presenta LDs más cercanos a sus respectivos LMRs (enrofloxacina: 170 µg/kg; eritromicina: 45 µg/kg y sulfametacina: 204 µg/kg), con una especificidad adecuada (96%). Así, este bioensayo permite detectar

antibióticos utilizados con gran frecuencia en ganado caprino, tales como enrofloxacina, eritromicina y sulfametacina. El uso combinado de un método microbiológico comercial con *Geobacillus stearothermophilus* y un bioensayo que utiliza *B. subtilis*, incrementa el espectro de detección de antibióticos y minimiza el riesgo de su presencia en la leche de cabra.

Palabras clave: leche cabra, antibióticos, métodos microbiológicos, *Bacillus subtilis*.

INTRODUCCIÓN

La presencia de antibióticos es un aspecto de gran importancia para la calidad higiénica de la leche cruda. Los métodos microbiológicos basados en la inhibición de *Geobacillus stearothermophilus* var *calidolactis* son ampliamente utilizados en la detección de residuos de antibióticos en la leche por su elevada sensibilidad a los antibióticos betalactámicos. Sin embargo, estos métodos presentan algunas limitaciones ya que, en general, no son capaces de detectar sustancias de uso habitual en caprino lechero, tales como macrólidos, quinolonas o sulfamidas (Sierra *et al.*, 2009; Beltrán *et al.*, 2015), a los límites de seguridad legalmente establecidos (LMR). Además, al tratarse de métodos inespecíficos, pueden verse afectados por factores relacionados con la propia composición de la leche, la presencia de inhibidores naturales o elevados recuentos de células somáticas, entre otros, que podrían dar lugar a resultados “falsos positivos” (Althaus *et al.*, 2003).

Para incrementar el espectro de detección de antibióticos no betalactámicos en la fase de cribado, algunos autores sugieren la utilización complementaria de diferentes microorganismos más sensibles a estas sustancias. Así, Nagel *et al.* (2013), con un bioensayo de *Bacillus subtilis* en leche de vaca, consiguieron detectar a concentraciones cercanas al LMR, antimicrobianos de los grupos de los macrólidos, quinolonas y sulfamidas, incrementando la eficacia del cribado y garantizando en mayor medida la seguridad de la leche y sus derivados.

Por todo ello, el objetivo del trabajo ha sido la optimización de un bioensayo con *B. subtilis* para la detección de eritromicina, enrofloxacina y sulfametacina en leche de cabra, con una elevada especificidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un diseño factorial (4x2) para evaluar el efecto de 4 niveles del logaritmo de la concentración de esporas (Log [E]: 7; 7,4; 7,7 y 7,9) de *B. subtilis* y dos niveles de trimetoprim (TMP: 450 y 500 µg/kg) sobre los

límites de detección (eritromicina, enrofloxacina, y sulfametacina) y la especificidad del bioensayo. Se preparó medio de cultivo Mueller Hinton (38 g/L) fortificado con glucosa (10 g/L) y una mezcla de indicadores redox (20 mg/kg azul de toluidina y 150 mg/kg de trifeniltetrazolium). Posteriormente, se fraccionó en ocho alícuotas a las que se les agregó un volumen de suspensión de *B. subtilis* y TMP según el diseño experimental. Por último, se adicionaron 100 µl de medio en cada uno de los 96 pocillos de la microplaca. Se elaboraron 8 bioensayos para los estudios de especificidad y 48 bioensayos para los correspondientes a los límites de detección (16 microplacas por antibiótico).

Para el análisis de los límites de detección, se ensayaron 12 repeticiones de 8 concentraciones de enrofloxacina (0, 50, 100, 150, 200, 300, 400 y 500 µg/kg), eritromicina (0, 20, 30, 40, 50, 60, 80 y 100 µg/kg) y sulfametacina (0, 25, 50, 100, 150, 200, 300 y 400 µg/kg). Los límites de detección (concentración de antibiótico que produce un 95% de respuestas positivas) se calcularon a partir de un modelo de regresión logística que consideraba los factores concentración de antibiótico, nivel de esporas, trimetoprim y sus interacciones.

Para el estudio de la especificidad de los bioensayos, se analizaron 96 muestras individuales de leche de cabra procedentes de cabras Murciano-Granadinas no tratadas con medicamentos veterinarios, pertenecientes al rebaño experimental de la Universitat Politècnica de València. De forma paralela, se realizaron análisis de composición química (pH, grasa, proteína, lactosa y materia seca) y de calidad higiénico sanitaria de la leche (recuentos de células somáticas y gérmenes totales). La especificidad se calculó como el porcentaje de respuestas negativas respecto del total de muestras analizadas.

Por último, se optimizaron las respuestas del bioensayo mediante la función “deseabilidad”, eligiendo como criterio “minimizar” los LDs y “maximizar” la especificidad para evitar problemas de falsos positivos. Además, a cada respuesta se le asignó un valor diferente (enrofloxacina: 5; eritromicina: 3; sulfametacina: 1 y especificidad: 5) según su importancia relativa en el análisis de optimización. El tratamiento estadístico se realizó con Statgraphics versión 5.1 (StatPoint Technologies Inc, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se recogen los valores de límites de detección y especificidad obtenidos para cada microplaca ensayada. El modelo de regresión logística indicó efectos significativos ($p < 0,05$) para Log [E] y TMP sobre el nivel de detección de eritromicina y sulfametacina. Sin embargo,

la concentración de TMP no tuvo ningún efecto sobre la detección de enrofloxacin. En general, se observa que un aumento de la concentración de esporas en el medio de cultivo incrementa los límites de detección para los tres antibióticos incluidos en el estudio, mientras que un mayor nivel de TMP (500 µg/kg) mejora la capacidad de detección de eritromicina y sulfametacina. En cuanto a la especificidad del bioensayo (Tabla 1), en general, fue elevada, correspondiendo el máximo valor alcanzado (97%) a las microplacas elaboradas con 450 µg/kg de trimetoprim (TMP) y Log [E] ≥ 7,7.

Tabla 1. Límites de detección y especificidad calculados para cada bioensayo del diseño experimental.

Log [E]	TMP (µg/kg)	Límites de detección (µg/kg)			E (%)
		Enrofloxacin (LMR=100 µg/kg)	Eritromicina (LMR=40 µg/kg)	Sulfametacina (LMR=100 µg/kg)	
7,0	450	170	46	206	96
	500	170	41	183	93
7,4	450	214	52	232	96
	500	214	47	209	94
7,7	450	249	56	252	97
	500	249	51	230	96
7,9	450	269	59	264	97
	500	269	53	241	96

Log [E]: logaritmo concentración esporas; TMP: trimetoprim; E: especificidad; LMR: Límite Máximo de Residuo.

Haciendo uso de los LDs y especificidad obtenidos (Tabla 1), el programa calcula la deseabilidad (D=0,94) según los criterios de optimización y factores de importancia seleccionados previamente. La Figura 1 muestra la variación de deseabilidad en términos de Log [E] y TMP.

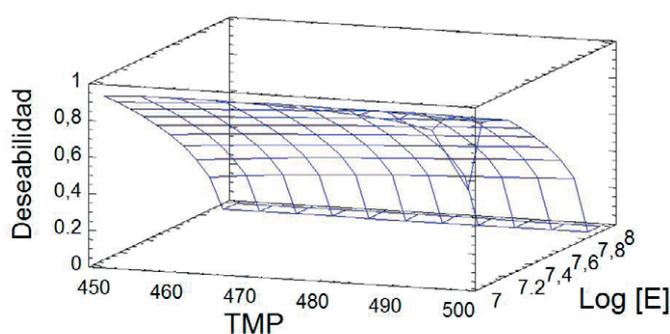


Figura 1. Efectos de la concentración de esporas y trimetoprim sobre la deseabilidad de un bioensayo que utiliza *B. subtilis*.

Se aprecia que el máximo valor de esta función (0,94) se encuentra ubicado para un valor Log [E]=7 y TMP=454 µg/kg. También se visualiza que para una concentración de esporas constante (Log [E]=7,2), dicha función es estable en un rango de concentración comprendido entre 480-500 µg/kg de TMP. Además, se observa que la función deseabilidad es muy sensible a los cambios en el nivel de esporas, ya que disminuye notablemente cuando aumenta desde 7 hasta 7,9. Por ello, se deberá controlar rigurosamente la concentración de esporas en el momento de elaborar este bioensayo, a fin de obtener un método más robusto.

Un bioensayo elaborado con las condiciones óptimas calculadas (Log [E]=7 y TMP=454 µg/kg) presenta LDs cercanos a sus respectivos LMRs para la enrofloxacina (170 µg/kg *vs.* 100 µg/kg), eritromicina (45 µg/kg *vs.* 40 µg/kg) y sulfametacina (204 µg/kg *vs.* 100 µg/kg), con una elevada especificidad (96%).

Comparando los resultados obtenidos en este estudio con los límites de detección calculados por Sierra *et al.* (2009), se observa que la utilización de *B. subtilis* mejora considerablemente la detección de la enrofloxacina y la eritromicina respecto a diferentes métodos comerciales en leche de cabra (BRT AiM, Delvotest MCS y Eclipse 100) (enrofloxacina: 3.749 µg/kg; eritromicina: 174-437 µg/kg). Para la sulfametacina, el LD calculado fue muy inferior al obtenido con los métodos BRT AiM (555 µg/kg) y Eclipse 100 (1269 µg/kg).

CONCLUSIONES

Un bioensayo optimizado con *B. subtilis* y trimetoprim, permite detectar antibióticos utilizados con gran frecuencia en ganado caprino lechero, tales como eritromicina, enrofloxacina y sulfametacina. La combinación de un método comercial con *G. stearothermophilus* y el bioensayo desarrollado, mejora el perfil de detección de residuos de antibióticos a concentraciones cercanas al LMR, contribuyendo a garantizar la seguridad de la leche y los productos derivados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto AGL-2009-11514 financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

BIBLIOGRAFÍA

Althaus, R.L., Molina, M.P., Peris, C., Torres, A., Fernández, N., Beltrán, M.C. (2003). Accuracy of BRT and delvotest microbial inhibitor test as affected by composition of ewe's milk. *Journal of Food Protection*, 66: 473-478.

- Beltrán, M.C., Berruga, M.I., Molina, A., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2015). Performance of current microbial tests for screening antibiotics in sheep and goat milk. *International Dairy Journal*, 41: 13-15.
- Nagel, O.G., Molina, M.P., Althaus, R.L. (2013). Microbiological system in microtitre plates for detection and classification of antibiotic residues in milk. *International Dairy Journal*, 32: 150-155.
- Sierra, D., Sánchez, A., Contreras, A., Luengo, C., Corrales, J.C., Morales, C.T., De la Fe, C., Guirao, I., Gonzalo, C. (2009). Short communication: Detection limits of non β -lactams antibiotics in goat's milk by microbiological residues screening test. *Journal of Dairy Science*, 92: 4200-4206.

OPTIMIZATION OF A BIOASSAY WITH *BACILLUS SUBTILIS* FOR THE DETECTION OF ANTIBIOTICS IN GOAT'S MILK

SUMMARY

A bioassay for the detection of antibiotics very frequently used in caprine livestock was optimized to screen goat's milk. A factorial design (4x2) to evaluate the effect of the *B. subtilis* spore concentration (Log [S]: 7, 7.4, 7.7 and 7.9) and the trimethoprim concentration (TMP: 450 and 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) on the specificity and the antibiotic detection limits of the method in goat's milk was proposed. Mueller Hinton culture medium (38 g/L) fortified with glucose (10 g/L), toluidine blue (20 mg/kg) and triphenyltetrazolium (150 mg/kg) was used. The specificity of the bioassay was performed analyzing 96 samples of antibiotic-free goat's milk and the detection limits through 12 replications of 8 concentrations of each antibiotic. The specificity of the bioassay was high (93-97%) reaching the maximum value with the microplate containing 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of TMP and $\text{Log [S]} \geq 7.7$. However, the best detection limits were obtained for the microplates with the lowest spores concentration ($\text{Log [S]} = 7$). The desirability function indicated that a bioassay developed with 454 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of TMP and 1×10^7 spores/mL ($\text{Log [S]} = 7$) of *B. subtilis* presented DLs close to their respective MRLs (enrofloxacin: 170 $\mu\text{g}/\text{kg}$; erythromycin: 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and sulfamethazine: 204 $\mu\text{g}/\text{kg}$) with an adequate specificity (96%). This bioassay can detect antibiotics very frequently used in caprine livestock, such as enrofloxacin, erythromycin and sulfamethazine. The combined use of a commercial microbiological method with *Geobacillus stearothermophilus* and a bioassay that uses *Bacillus subtilis*, increase the spectrum of detection and minimize the risks derivate of the presence of these residues in goat milk.

Key words: Goat milk, antibiotics, microbiological test, *Bacillus subtilis*.

QUINTANILLA, P.^{1*}; BELTRÁN, M. C.¹; ROMERO, T.¹; ESCRICHE, I.² y MOLINA, M. P.¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

²Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

*paquivaz@etsmre.upv.es

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto de la presencia de enrofloxacin y ciprofloxacina en la leche de cabra sobre la composición y la cantidad de antibiótico del queso fresco y su evolución del periodo de conservación. Para ello, se realizaron fabricaciones, por duplicado, a partir de leche sin antibióticos y con adición de una concentración de antibiótico equivalente al Límite Máximo de Residuos (100 µg/kg). La composición del queso elaborado con enrofloxacin presenta mayores porcentajes de materia seca, grasa, proteína y sal que el queso control. También se encontró un efecto significativo entre fabricaciones y con el tiempo de conservación sobre el contenido en grasa. En el caso de los quesos elaborados con ciprofloxacina no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los factores de variación estudiados. En cuanto a la retención de enrofloxacin en el queso fresco fue de un 44,5 % observándose una disminución significativa del 20,2 % en la concentración de antibiótico después de un periodo de conservación en refrigeración de siete días (244,5 *vs.* 195 µg/kg; $p < 0,05$). Para la ciprofloxacina, se obtuvo un mayor porcentaje de retención (51,8 %) y no se observaron diferencias significativas en la concentración de antibiótico en el queso debidas a la conservación (284,8 *vs.* 248,6 µg/kg; $p > 0,05$). En función de los resultados obtenidos, se puede concluir que los quesos frescos elaborados

a partir de leche de cabra con una concentración de quinolonas dentro de límites legalmente permitidos (LMR), contienen cantidades variables de estas sustancias a lo largo de su vida útil lo que podría suponer un riesgo para la salud pública.

Palabras clave: Leche de cabra, quinolonas, queso fresco.

INTRODUCCIÓN

La presencia de antibióticos en la leche representa un riesgo para la seguridad alimentaria por lo que es obligatorio su control en diferentes etapas del proceso productivo (Reglamento CE nº 853/2004). También pueden tener consecuencias negativas en la industria láctea inhibiendo el crecimiento de los cultivos iniciadores utilizados en la elaboración de productos fermentados (Berruga *et al.*, 2007) u ocasionando posibles alteraciones de las propiedades fisicoquímicas y organolépticas (Goursaud, 1991). Para proteger a los consumidores de la presencia de antibióticos en la leche, la Unión Europea ha establecido unos Límites Máximos de Residuos (LMR) para diferentes sustancias farmacológicamente activas (Reglamento CE nº 37/2010), estableciéndose para la enrofloxacin, una de las quinolonas de mayor empleo en ganado lechero, un LMR de 100 µg/kg.

La presencia de residuos de antimicrobianos en la leche destinada a la elaboración de queso, puede tener como consecuencia la retención de cantidades variables de estas sustancias en el producto final (Adetunji, 2011). Además la enrofloxacin, al igual que otras quinolonas, es muy estable a los tratamientos térmicos de la leche como la pasteurización (Roca *et al.*, 2010) habitualmente empleada en la elaboración de queso fresco, lo que podría suponer un riesgo para la salud de los consumidores. Dado que la información sobre la presencia de antibióticos en la leche y la elaboración de productos lácteos es muy limitada resulta de interés estudiar el comportamiento y el efecto de los antibióticos en derivados lácteos como el queso. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de la presencia de enrofloxacin y ciprofloxacina en la leche de cabra sobre la composición y la cantidad de antibiótico retenida en el queso fresco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se han realizado fabricaciones de queso fresco tipo “Burgos” con leche pasteurizada de cabra procedente del rebaño experimental de cabras Murciano-Granadinas de la Universitat Politècnica de Valencia

(UPV). Las fabricaciones se llevaron a cabo en la planta piloto de la UPV por duplicado, utilizando leche sin de antibióticos (grupo control) y con antibiótico (enrofloxacina y ciprofloxacina) a una concentración equivalente al LMR (100 µg/kg). La adición de antibiótico se realizó antes del tratamiento de pasteurización en cuba (65°C, 30 min). El salado de los quesos frescos se realizó por frotación. De cada uno de los lotes fabricados se seleccionaron 8 quesos, de 250 gramos aproximadamente, que se mantuvieron en refrigeración entre 4-6° C durante 7 días. Los análisis de los quesos frescos se realizaron después de la fabricación (día 1), momento en el que ya podrían ser comercializados, y tras siete días de conservación en frío (día 7).

Los análisis de la composición del queso (extracto seco, grasa, proteína y sal) se realizaron por duplicado por medio de infrarrojos, mediante un FoodScan (Foss, Foss Iberia. Barcelona). La concentración de antibiótico residual en los quesos se determinó por HPLC (Instituto Lactológico de Lekunberri, Navarra) y el porcentaje de antibiótico retenido en el queso se calculó a partir de la concentración inicial de antibiótico en la leche (100 µg/kg leche) y del rendimiento quesero (kg de leche/kg de queso) obtenido en cada una de las elaboraciones. El tratamiento estadístico se llevó a cabo realizando un análisis de varianza que considera los efectos de la presencia de antibiótico, lote de fabricación y tiempo de conservación, así como sus interacciones sobre las características del queso fresco de cabra con el programa Statgraphics Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presenta la composición química de los quesos frescos elaborados sin antibiótico y con adición de enrofloxacina, así como el efecto de la fabricación y del tiempo de conservación sobre los componentes. En ella se observa que los quesos elaborados con leche con enrofloxacina al LMR presentan un mayor extracto seco, nutrientes principales (grasa y proteína) y sal que los quesos elaborados con leche libre de antibióticos. Los factores relacionados con la fabricación, afectaron al contenido en grasa y sal de los quesos, mientras que el tiempo de conservación sólo tuvo un efecto significativo sobre el porcentaje de materia grasa que fue más elevado al final del periodo considerado. Ninguna de las interacciones estudiadas tuvo un efecto significativo sobre la composición de los quesos.

Tabla 1. Efecto de la presencia de enrofloxacin en la leche, lote de fabricación y tiempo de conservación sobre la composición del queso fresco de cabra.

Parámetro	Antibiótico		Fabricación		Tiempo conservación		ES
	0	100 µg/kg	1	2	1	7	
Materia seca (%)	41,84 ^a	43,44 ^b	42,77	42,52	42,19	43,09	0,35
Grasa (%)	23,50 ^a	24,26 ^b	24,75 ^a	23,00 ^b	23,37 ^a	24,38 ^b	0,21
Proteína (%)	13,95 ^a	14,51 ^b	14,12	14,34	14,05	14,42	0,15
Sal (%)	1,38 ^a	1,89 ^b	1,27 ^a	2,02 ^b	1,65	1,64	0,13

Diferentes letras en cada fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En el caso de los quesos elaborados sin y con de 100 µg/kg de ciprofloxacina, no se observó ningún efecto significativo de los factores considerados sobre las características de los quesos frescos de leche de cabra (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la presencia de ciprofloxacina en la leche, lote de fabricación y tiempo de conservación sobre la composición del queso fresco de cabra.

Parámetro	Antibiótico		Fabricación		Tiempo conservación		ES
	0	100 µg/kg	1	2	1	7	
Materia seca (%)	46,45	45,94	45,64	46,75	46,77	45,63	0,49
Grasa (%)	26,77	26,17	26,30	26,64	26,74	26,20	0,25
Proteína (%)	15,61	15,73	15,38	15,95	15,92	15,41	0,18
Sal (%)	1,50	1,51	1,50	1,51	1,54	1,47	0,03

En cuanto a la retención de quinolonas en el queso fresco, en la Figura 1 se presenta la concentración residual de enrofloxacin y ciprofloxacina en los quesos en dos momentos del periodo de conservación (1 y 7 días de almacenamiento refrigerado).

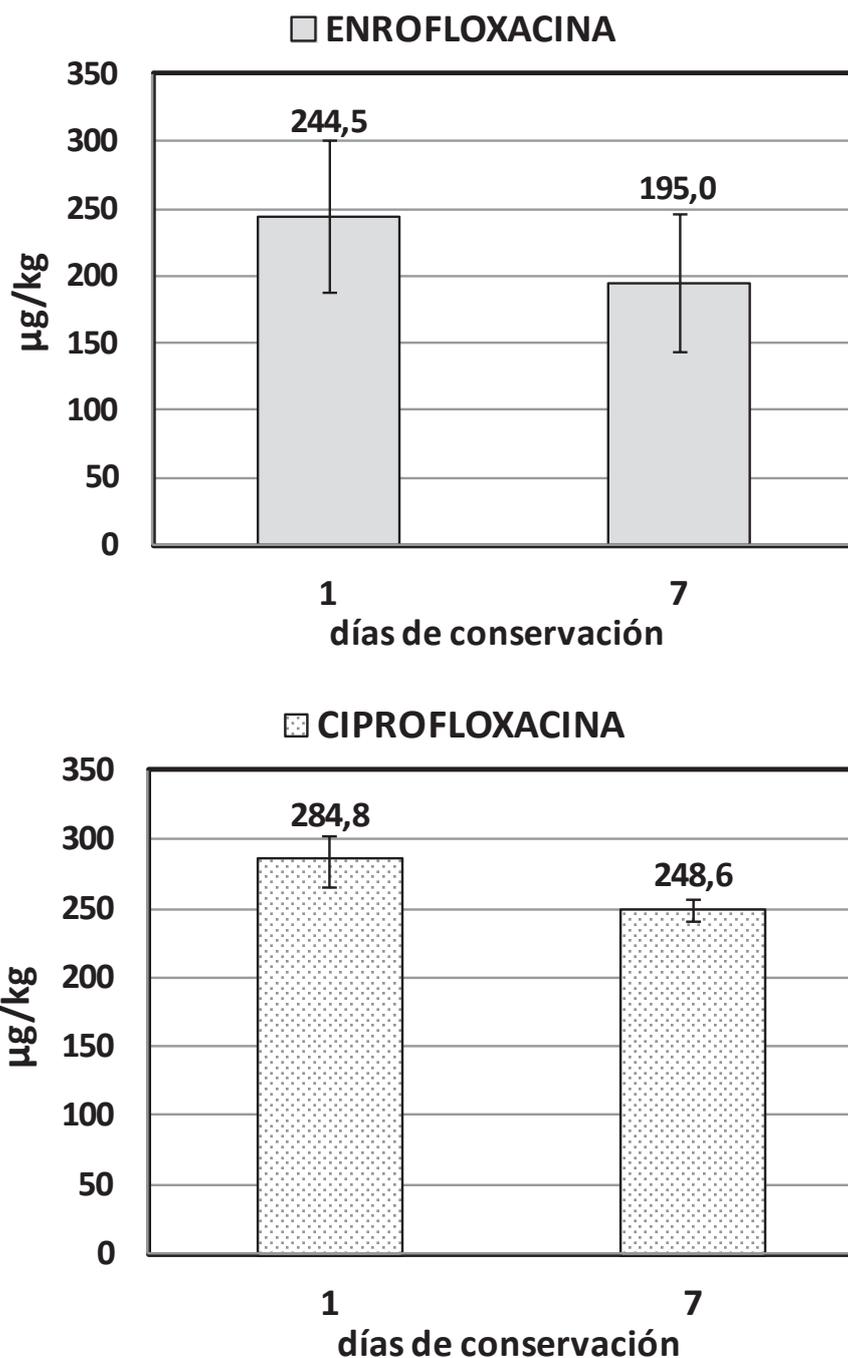


Figura 1. Concentración de enrofloxacin y ciprofloxacin en el queso fresco de cabra a distintos tiempos de conservación.

La concentración media de enrofloxacin en el queso fresco recién preparado fue de 244,5 µg/kg lo que considerando el rendimiento medio de 5,5 kg de leche/kg de queso representa una retención de este antibiótico del 44,5 %. Tras los 7 días de conservación, el queso fresco presentó una concentración final de 195,0 µg/kg lo que supone una reducción del 20,2 %, respecto al contenido inicial de enrofloxacin en el queso (día 1). Esta reducción podría estar relacionada con la posible pérdida del antibiótico con el lactosuero y/o del mismo durante

el almacenamiento, ya que aunque las diferencias de extracto seco no resultaron significativas por la conservación, si que se observa un incremento del mismo a los siete días lo que podría implicar una reducción de la humedad del queso.

En el caso de la ciprofloxacina el porcentaje de retención calculado fue de 51,8 % y a diferencia de la enrofloxacin, no se observaron diferencias significativas en el contenido de antibiótico residual en el queso a lo largo del periodo de conservación aunque también se observa una reducción en la cantidad de antibiótico.

En un estudio realizado por Adetunji (2011) sobre la presencia de penicilina, estreptomycin y tetraciclina en quesos y yogures elaborados en distintas queserías comerciales a partir de leche con residuos de estas sustancias, también se observa que los productos terminados contienen cantidades variables de antibióticos que en algunos casos se ven poco modificadas por los procesos tecnológicos lo que podría llegar a comprometer la seguridad de estos alimentos.

CONCLUSIONES

Los quesos frescos elaborados a partir de leche de cabra con una concentración de quinolonas dentro de los límites legalmente permitidos (LMR) contienen cantidades importantes de estas sustancias a lo largo de su vida útil, lo que podría suponer un riesgo para la salud de los consumidores. Por ello, sería también conveniente estudiar el comportamiento de otros antibióticos durante la elaboración y conservación de diferentes tipos de quesos, para poder valorar el impacto de la utilización de leche con antibióticos en su elaboración y en las características del producto final.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto AGL2013-45147-R, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Agradecer también al Programa de Investigación y Desarrollo (PAID) de la Universitat Politècnica de València (FPI-2014).

BIBLIOGRAFÍA

- Adetunji, V.O. (2011). Effects of processing on antibiotic residues (Streptomycin, Penicillin-G and Tetracycline) in soft cheese and yoghurt processing lines. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10: 792-795.
- Berruga, M.I., Molina, M.P., Noves, B., Roman, M., Molina, A. (2007). "In vitro study about the effect of several penicillins during the fermentation of yogurt made from ewe's milk". *Milchwissenschaft*, 62: 303-305.
- Goursand, L. (1991). Composición y propiedades físico-químicas en leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra. 1-92. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Roca, M., Castillo, M., Martí, P., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2010). Effect of heating on the stability of quinolones in milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 5427-5431.

QUINOLONES PRESENCE IN FRESH GOAT CHEESE

SUMMARY

The effect of the presence of enrofloxacin and ciprofloxacin in goat's milk on the composition and the antibiotic concentration in fresh cheese and its evolution along the preservation period has been studied. To do so, fabrications were made in duplicate, from antibiotic-free milk (control chesses) and milk with addition of a antibiotic concentration equivalent to the maximum residue limit (100 µg/kg). The composition of the cheeses made with enrofloxacin presented higher percentages of dry matter, fat, protein and salt than the control cheeses. Also, a significant effect between fabrication and the preservation period on the fat content was found. In the case of cheese made with ciprofloxacin there were no significant differences in any of the variation factors studied. Retentions of enrofloxacin in fresh cheese was 44.5%, a significant decrease (20.2%) in the antibiotic concentration after a period of seven days of cooling preservation was observed (244.5 *vs.* 195 µg/kg; $p < 0.05$). For ciprofloxacin, a greater percentage of retention (51.8%) was obtained and there were non-significant differences in the antibiotic concentration in the cheeses due to preservation (284.8 *vs.* 248.6 µg/kg; $p > 0.05$). According to the results obtained, it can be concluded that fresh cheese made from goat's milk with a concentration of quinolones within legally limits (MRLs), contain different amounts of these substances throughout its shelf-life may pose a risk for public health.

Key words: Goat milk, quinolones, fresh cheese.

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE CIPROFLOXACINA EN LA ELABORACIÓN Y LAS CARACTERÍSTICAS DEL YOGUR DE CABRA

MORAI-PIRLOG, A.¹; BELTRÁN, M. C.^{2*}; QUINTANILLA, P.³;
GIRALDO, J.²; ESCRICHE, I.³ y MOLINA, M. P.²

¹State Agrarian University of Moldova, Kishinev, 42 Mirceúti, 2049, Kishinev, Moldova.

²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

³Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

*mbeltran@dca.upv.es

RESUMEN

Este estudio analiza el efecto de la presencia de ciprofloxacina en leche de cabra sobre las características del yogur. Para ello, se han realizado fabricaciones de yogur, por duplicado, a partir de leche de cabra sin antibióticos y con adición de 100 µg/kg de ciprofloxacina, evaluando las posibles modificaciones en el proceso de acidificación y las características del producto final (acidez, microbiología, textura y viscosidad) al inicio (1 día) y al final de la conservación (28 días). En cuanto a las características de los yogures, la presencia de ciprofloxacina disminuyó la acidez y el recuento de *Streptococcus thermophilus*. La textura, la viscosidad y el desarrollo de *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* no se vieron afectados significativamente por la presencia del antibiótico. El tiempo de almacenamiento influyó en casi la totalidad de los parámetros estudiados, aumentando la firmeza y la acidez de los yogures, así como disminuyendo el recuento de *S. thermophilus* y *L. delbruekii*. En general, la presencia de ciprofloxacina a 100 µg/kg en la leche de cabra no parece producir alteraciones importantes en la elaboración y las características del yogur.

Palabras clave: Leche de cabra, ciprofloxacina, yogur.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los consumidores han mostrado un interés creciente por los productos lácteos elaborados con leche de cabra, debido a su mayor digestibilidad y también a su capacidad de satisfacer las necesidades de personas con alergias a la leche de vaca (Haenlein, 2004). Por lo general, una gran parte de la producción de leche de cabra es destinada a la elaboración de derivados lácteos, principalmente queso y yogur, así como de otro tipo de productos entre los que se encuentran la leche en polvo, nata, mantequilla, helado o concentrados proteicos de suero (Pandya & Ghodke, 2007).

Los estudios sobre calidad de yogur de leche de cabra son muy limitados, especialmente en lo relativo al efecto negativo de la presencia de antibióticos en la leche empleada como materia prima. Estas sustancias pueden inhibir el crecimiento de los microorganismos responsables de la fermentación (Katla *et al.*, 2001), ocasionando retrasos en la acidificación del yogur y comprometiendo la calidad del producto final.

En yogures elaborados con leche de oveja, diversos autores señalan alteraciones debidas a la presencia de antibióticos. Así, Berruga *et al.* (2007) evidencian un retraso en el tiempo de incubación de hasta 1 hora debido a la presencia de penicilina G y ampicilina a una concentración igual o superior a sus respectivos límites máximos de residuos (LMR). También Berruga *et al.* (2008), señalan modificaciones en la evolución del pH de los yogures elaborados con diferentes concentraciones de ceftiofur, comprendidas entre 0,5 y 1,5 LMR, con retrasos en la coagulación que superan en más de 6 horas al grupo control, para la concentración de antibióticos más elevada. A su vez Novés *et al.* (2012), indican que concentraciones de oxitetraciclina próximas al LMR provocan, ya en el segundo día tras la fabricación del yogur, una disminución de la producción de L(+)-láctico de hasta un 61%, coincidiendo con una inhibición significativa del crecimiento de *S. thermophilus*, bacteria responsable de la producción de esta variante del ácido láctico.

Debido a la importancia que puede tener la presencia de antibióticos en la leche sobre la fabricación de yogur y dado que en ganado caprino estos estudios son inexistentes, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de la presencia de ciprofloxacina en la leche de cabra sobre la elaboración y características del yogur.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han realizado fabricaciones de yogur, por duplicado, a partir de leche de cabra sin antibiótico y con una concentración de 100 µg/kg de

ciprofloxacina. Después de la adición del antibiótico, se procedió a la pasteurización de la leche a 80°C durante 30 minutos en una Thermomix TM 31 (Vorwerk Thermomix España). La leche pasteurizada se enfrió hasta 43°C, a continuación se adicionó el cultivo iniciador (YF-L812 Yo-Flex®, Chr Hansen) y se distribuyó en recipientes de 60 mL de capacidad, incubándose a 45°C en un baño termostático. Durante la elaboración del yogur se controló el pH cada 15 minutos, para establecer la curva de acidificación y el tiempo de coagulación necesario hasta alcanzar un valor de pH igual a $4,60 \pm 0,05$.

Los análisis de caracterización de los yogures se realizaron en el día 1 y 28 de conservación a 4-6°C. Para ello, se midieron el pH, la acidez Dornic, la textura, mediante un ensayo de compresión utilizando un texturómetro (Stable Micro Systems, TA-XT Plus, U.K.) y una sonda cilíndrica de 35 mm de diámetro, obteniendo valores de máxima fuerza (N) y la viscosidad, con un reómetro rotatorio (Thermo Scientific, HAAKE RheoStress 1, USA), realizando 6 mediciones para cada lote de fabricación. Asimismo, se llevaron a cabo por duplicado, recuentos de los microorganismos *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Agar MRS acidificado, 72 h-37°C, en condiciones anaerobias) y *Streptococcus thermophilus* (Agar M17, 48 h - 37°C, en condiciones aerobias). Finalmente, se realizó un análisis de varianza mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies, Inc. USA) para estudiar el efecto de la concentración de ciprofloxacina, el tiempo de conservación, el día de fabricación y sus interacciones, sobre las características del yogur.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tiempo de incubación requerido para la elaboración de yogur no se vio afectado ($p > 0,05$) ni por la presencia de ciprofloxacina en la leche, ni por el día de fabricación, alcanzándose el pH final de $4,60 \pm 0,05$ en un tiempo medio de 251 minutos. Estos resultados difieren de los encontrados por Berruga *et al.* (2007, 2008) en leche de oveja adicionada de antibióticos betalactámicos, lo que indicaría una mayor susceptibilidad de los fermentos a este grupo de antimicrobianos.

En la Tabla 1, se presentan las características de los yogures de leche de cabra para los distintos factores de variación considerados. En ella, se observa que la presencia de ciprofloxacina sólo tuvo un efecto significativo sobre la acidez Dornic ($p < 0,001$) y el recuento de *S. thermophilus* ($p < 0,001$), que resultaron inferiores en los yogures elaborados con leche adicionada de antibiótico. En leche de oveja, Novés *et al.* (2012) también observan inhibiciones significativas en el crecimiento de esta bacteria

debidas a la presencia de 150 µg/Kg de oxitetraciclina (1,5LMR), sin embargo no encuentran ningún efecto ($p > 0,05$) sobre la acidez Dornic del yogur.

El resto de variables analizadas, se vieron más influenciadas por el tiempo de conservación, así como por aspectos relacionados con el proceso de fabricación del yogur. Por ejemplo, tras 28 días de conservación a 4-6°C, los yogures presentaron una mayor firmeza y un menor valor de pH acompañado de un incremento de la acidez Dornic. También se observó una disminución de los recuentos de *S. thermophilus* y *L. delbruekii* subsp. *bulgaricus* al final del periodo de conservación considerado. Además, se observó un efecto significativo del día de fabricación sobre las variables firmeza, viscosidad y recuento de *S. thermophilus*.

Tabla 1. Influencia de la presencia de ciprofloxacina, tiempo de conservación y día de fabricación sobre las características del yogur de leche de cabra.

	Ciprofloxacina			Días de conservación			Día de Fabricación			ES
	0	100 µg/kg	F-ratio	1	28	F-ratio	1	2	F-ratio	
Firmeza (N)	1,47	1,33	3,43 ^{ns}	1,30 ^a	1,50 ^b	7,11 [*]	1,28 ^a	1,52 ^b	9,92 ^{**}	0,05
Viscosidad (Pa.s)	0,286	0,281	0,51 ^{ns}	0,284	0,282	0,06 ^{ns}	0,293 ^b	0,274 ^a	6,55 [*]	0,01
pH	4,52	4,60	2,54 ^{ns}	4,69 ^b	4,42 ^a	34,18 ^{**}	4,55	4,57	0,18 ^{ns}	0,03
Acidez Dornic (°D)	81,6 ^b	79,4 ^a	63,76 ^{***}	7,19 ^a	8,90 ^b	4033 ^{***}	8,06	8,04	0,31 ^{ns}	0,02
<i>Streptococcus thermophilus</i> Log ufc/g	8,83 ^b	8,38 ^a	295 ^{***}	8,78 ^b	8,43 ^a	184 ^{***}	8,64 ^b	8,57 ^a	7,06 [*]	0,02
<i>Lactobacillus delbruekii</i> Log ufc/g	6,85	6,66	0,13 ^{ns}	7,38 ^b	6,13 ^a	6,04 [*]	6,72	6,79	0,02 ^{ns}	0,36

Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$); $***p < 0,001$; $**p < 0,01$; $*p < 0,05$; ns: no significativo.

Respecto a las interacciones, se observó un efecto significativo de la interacción entre la presencia de antibiótico y los días de conservación tanto para la acidez Dornic como para el logaritmo del recuento de *S. thermophilus* (Figura 1).

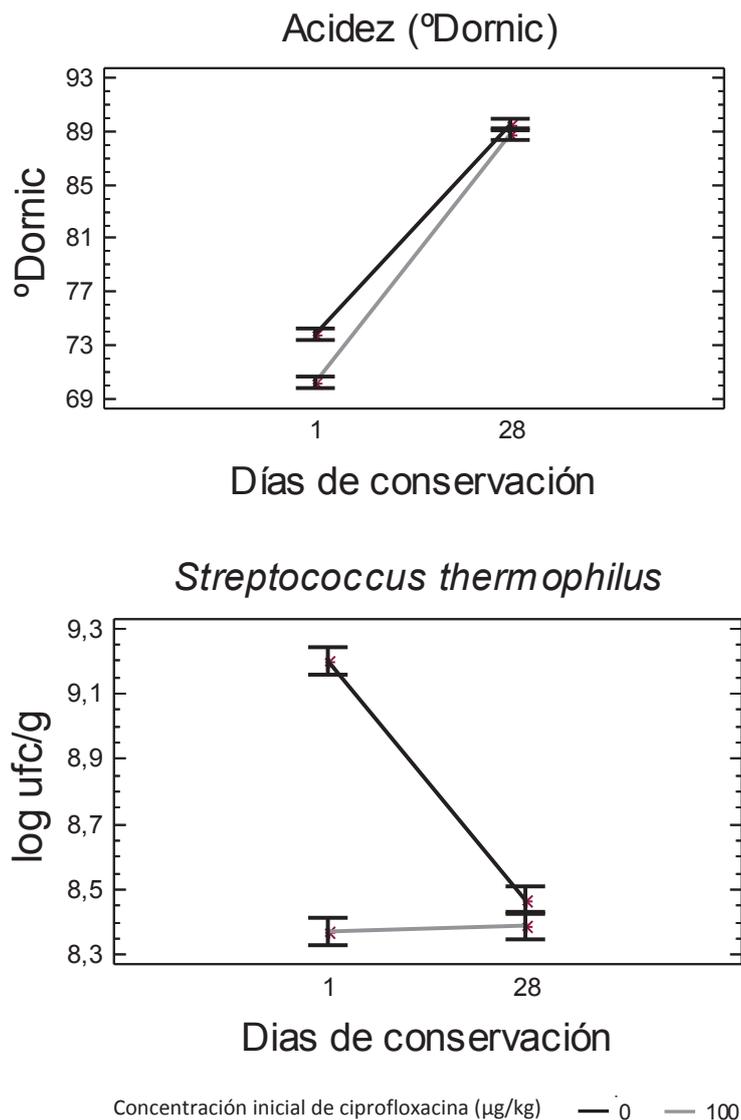


Figura 1. Efecto de la concentración de ciprofloxacina y los días de conservación sobre la acidez Dornic y el recuento de *S. thermophilus* del yogur de leche de cabra.

En la Figura 1 se observa que, tanto para el grupo control como para el adicionado de ciprofloxacina, la acidez Dornic aumenta con el tiempo de almacenamiento. Además, las diferencias de acidez entre ambos grupos de yogures son ligeramente más pronunciadas al principio de la refrigeración, siendo inferior el valor de este parámetro para los yogures con antibiótico tanto al inicio como al final de la conservación. Asimismo, se evidencia que el valor de log de *S. thermophilus* en el día 1 de almacenamiento es muy superior para los yogures control respecto a los adicionados con antibiótico, observándose una evolución negativa del crecimiento del fermento a lo largo del tiempo para el grupo sin antibiótico y constante para los yogures con ciprofloxacina.

CONCLUSIONES

La presencia de 100 µg/kg de ciprofloxacina en la leche destinada a la elaboración de yogur, no incrementa los tiempos de fabricación ni produce alteraciones importantes en la mayor parte de las características estudiadas. Se desconoce si una concentración de ciprofloxacina superior, podría tener un mayor efecto que pudiera alertar de su presencia en la industria, haciendo necesario su control para evitar la introducción de este antibiótico en la cadena alimentaria.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto AGL2013-45147-R, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Agradecer también al Programa de Investigación y Desarrollo (PAID) de la Universitat Politècnica de València (FPI-2014).

BIBLIOGRAFÍA

- Berruga, M.I., Molina, M.P., Noves, B., Roman, M., Molina, A. (2007). "In vitro study about the effect of several penicillins during the fermentation of yogurt made from ewe's milk". *Milchwissenschaft*, 62: 303-305.
- Berruga, M.I., Molina, M.P., Noves, B., Roman, M., Molina, A. (2008). "Influence of cephalosporins on the coagulation time of yogurt made from ewes' milk. *International Journal of Dairy Technology*", 61, 372-378.
- Haenlein, G.F.W. (2004). "Goat milk in human nutrition". *Small Ruminant Research*, 51: 155-163.
- Katla, A.K., Kruse, H., Johnsen, G., Herikstad, H. (2001). "Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products". *International Journal of Food Microbiology*, 67: 147-152.
- Novés, B., Librán, C.M., Berruga, M.I., Molina, A. y Molina, M.P. (2012). "Efecto de la presencia de residuos de oxitetraciclina en leche de oveja sobre las propiedades de yogur: experiencia In vitro". *Actas*: 144-148. 37 Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Ciudad Real. España.
- Pandya, A.J., Ghodke, K.M. (2007). "Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt". *Small Ruminant Research*, 68: 193-206.

THE EFFECT OF THE PRESENCE OF CIPROFLOXACIN ON THE ELABORATION AND CHARACTERISTICS OF GOAT'S MILK YOGHURT

SUMMARY

Herein, the effect of the presence of ciprofloxacin in goat's milk on the characteristics of goat's milk yoghurt was studied. Thus, yoghurt fabrications were made in duplicate from antibiotic-free goat's milk and with the addition of 100 µg/kg of ciprofloxacin, evaluating potential modifications of the acidification process as well as the characteristics of the final product (acidity, microbiology, texture and viscosity) at the beginning of the preservation period and at the end of its shelf-life (1 and 28 days). With regard to yoghurt characteristics, the presence of ciprofloxacin affected acidity, resulting in yoghurts with a reduced acidity and provoked a reduction of the *Streptococcus thermophilus* growth. The texture, viscosity and the development of *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* were significantly unaffected by the presence of ciprofloxacin. The storage period influenced almost all of the parameters studied, increasing the texture and acidity of the yoghurt (lower pH and higher acidity) as well as the count of the microorganisms associated to the starter (*S. thermophilus* and *L. delbruekii* ssp. *bulgaricus*). The presence of ciprofloxacin at MRL did apparently not cause significant alterations in goat's milk yoghurt elaboration and its characteristics.

Key words: Goat milk, ciprofloxacin, yogurt.

PRESENCIA DE VITAMINA A EN EXPLOTACIONES DE OVINO DE LECHE EN CASTILLA Y LEÓN: EFECTO DEL TIPO DE EXPLOTACIÓN, MES Y PRODUCCIÓN INDIVIDUAL

PINA, A.M.¹; BERZAL, N.¹; ÁLVAREZ, R.¹; VILLAMEDIANA, R.²; GONZÁLEZ, M.G.³; RODRÍGUEZ, L.A.⁴ y ALCALDE, M.J.¹

¹E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla.

²Cooperativa Quesos Cerrato, Baltanás (Palencia).

³Cooperativa Nutecal, Benavente (Zamora).

⁴Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL). Junta de Castilla y León.

RESUMEN

Se ha estudiado la concentración de retinol en muestras de leche de oveja de los seis primeros meses del año pertenecientes a 18 explotaciones ovinas de Castilla y León. Estos rebaños seguían diferentes sistemas de explotación (intensivo, semiintensivo y extensivo) y presentaban distintos niveles de producción (menos de 15 litros/oveja y mes, de 15 a 40 litros y más de 40 litros). Se comprobó que el contenido en retinol de la leche varió con el mes del año, con el nivel de producción de los animales y con el sistema de explotación. Las menores concentraciones de retinol en leche se encontraron en los meses cercanos al estío, en las explotaciones con mayor producción (>40 litros/oveja/mes) y en el sistema semiintensivo. El modelo multivariante empleado con mes de producción, tipo de explotación y producción media de leche explicaron el 89,8% de la variabilidad de los resultados.

Palabras clave: retinol, ovino de leche, producción, época del año, sistema de explotación.

INTRODUCCIÓN

Buscando el valor añadido que la leche de ovino proporciona a nuestra dieta como producto saludable, se siguen investigando sus propiedades,

por ello se realizan estudios sobre el contenido de vitamina A (retinol) y otros compuestos con propiedades nutricionales en la leche de oveja.

Existen trabajos previos (Ellis *et al.*, 2007; Butler *et al.*, 2008) en los que se ha estudiado la relación del contenido de vitaminas liposolubles, como es el retinol, en leche de oveja con el tipo de explotación o la época del año en que se ha producido la leche, pero aún hoy existe disparidad entre los resultados de dichos estudios. De esta manera, el presente trabajo se realiza para avanzar en el estudio de los factores y la manera en que influyen en el contenido de retinol en la leche de oveja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre enero y junio de 2014 se recogieron un total de 108 muestras de leche de tanque procedentes de 18 explotaciones ovinas de Castilla y León, todas pertenecientes a las Cooperativas Quesos Cerrato-Nutecal.

Las explotaciones se clasificaron según el tipo de explotación-alimentación en: intensiva (estabulación permanente): aquella explotación que es totalmente independiente del campo (“no paga ni pastos”), semiintensiva (pastoreo parcial): aquellas explotaciones que pagan pastos, pero no salen al campo las ovejas de ordeño ni en el parto y/o los animales de reposición y extensiva (pastoreo total): aquellas explotaciones que salen todos los animales al campo independientemente de su estado productivo.

Las producciones lecheras por oveja y mes variaban desde los 5 a los 52 litros/oveja/mes, por lo que se clasificaron las explotaciones según estas producciones en: menores de 15 litros/oveja/mes, entre 15 y 40 litros/oveja/mes y superiores a 40 litros/oveja/mes.

Las muestras se mantuvieron congeladas hasta su análisis en laboratorio, donde se tomaron 2 ml de leche, se añadió una mezcla de etanol y hexano (1:1 v/v), llevando el conjunto a centrifugación durante 10 minutos a 2500 rpm. Después se extrajo la fase orgánica y se volvió a repetir la extracción orgánica con centrifugación hasta reunir tres extracciones completas, se añadió potasa etanólica al 15 % p/v y se dejó saponificar en completa oscuridad durante más de 12 horas. Tras esto, se lavaron las muestras con agua, se evaporaron hasta sequedad y se conservaron en atmósfera de nitrógeno hasta el análisis por HPLC, para lo que las muestras se diluyeron en 100 ml de acetato de etilo.

El análisis por HPLC se efectuó con un sistema Agilent 1100. La fase móvil consistió en metanol, metil terc-butil éter (MTBE) y agua, bombeándose a 1 ml/min. Los cromatogramas se monitorizaron a

450 nm para carotenoides, 325 nm para retinoides y 280 nm para tocoferol. La cuantificación se realizó mediante curvas de calibración de soluciones estándar.

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 15.0, utilizando un modelo de análisis de varianza que incluyó los efectos del mes del año (En, Fb, Mzo, Ab, My y Jun), del sistema de explotación (intensivo, semiintensivo y extensivo) y el nivel de producción de leche (menos de 15 litros/oveja y mes, de 15 a 40 litros y más de 40 litros).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque se estudió el contenido tanto de carotenoides como retinol y tocoferol, sólo se detectó retinol, siendo, además, sus niveles en las muestras de leche analizadas muy bajos, al ser compuestos nutricionales minoritarios (Alvarez *et al.*, 2014).

El contenido en retinol de la leche fue afectado significativamente por todos los factores estudiados: mes del año ($P < 0,001$), el sistema de explotación ($P < 0,05$) y el nivel de producción de leche ($P < 0,05$). En conjunto, estos factores explicaron el 90% de la variabilidad existente.

En la Tabla 1 se muestra la concentración media de todas las explotaciones analizadas en cada uno de los meses durante los cuales se ha llevado a cabo el estudio. Se puede apreciar que en los meses de enero y abril existe una mayor concentración de retinol, a diferencia de febrero y marzo, donde la concentración de este compuesto es significativamente menor ($P < 0,001$) y con una diferencia muy notable en los meses de mayo y junio, donde no se detectó retinol en las muestras de leche. Por lo tanto, se puede observar que existe una diferencia importante en el contenido de retinol entre los meses estudiados. De esta diferencia se deduce que el efecto del mes es un parámetro que influye en gran medida sobre la concentración de retinol en la leche. La ausencia de retinol en la leche en los meses cercanos al verano puede ser debido al estado del pasto, que en esa época empieza a ser menos verde y por consiguiente contiene menos compuestos pro-vitamina A (Nozière *et al.*, 2006 y Álvarez *et al.*, 2014).

Se han introducido en el estudio los dos factores, nivel de producción de leche y sistema de explotación-alimentación, porque se ha observado que el sistema de explotación no determina la producción media de leche de los rebaños, pues aunque las mayores producciones (superior a 40 litros por oveja) se encontraron en explotaciones intensivas, no todas las intensivas tenían las producciones más altas.

Tabla 1. Efecto de los meses del año sobre el contenido de la leche (media±es) en retinol (µg/ml).

	media±es
Enero	1,07±0,09 ^a
Febrero	0,55±0,05 ^b
Marzo	0,72±0,07 ^b
Abril	1,09±0,08 ^a
Mayo	ND
Junio	ND
Significación estadística	***

ND: no detectado

Significación estadística: ***: $p < 0,001$

En la Tabla 2 se indica el contenido medio en retinol de la leche en relación con el tipo de explotación y la producción lechera media por oveja. Ambos parámetros influyeron sobre la concentración de retinol en leche, pero en menor grado que el mes de producción lechera (Tabla 1).

El sistema de explotación (Tabla 2) presentó los valores más altos de retinol en el sistema intensivo ($0,61 \pm 0,04$) y los más bajos en el sistema semiintensivo ($0,45 \pm 0,05$), mientras que en el sistema extensivo se obtuvieron valores intermedios ($0,55 \pm 0,06$), que no difieren significativamente de los otros sistemas de explotación. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Bergamo *et al.* (2003), donde la mayor concentración en retinol se encontraba en los sistemas menos intensivos. Puesto que la diferencia entre los tipos de sistemas se basa en la cantidad de forraje fresco que consumen las ovejas (mayor o menor cantidad de pastoreo), ya que mayores ingestas de pasto conllevan mayores ingestiones de carotenoides, se podría estimar que en el caso de este estudio, que los alimentos aportados a las explotaciones intensivas conservan un mayor contenido de pro-vitamina A que los consumidos en las otras explotaciones (Alvarez *et al.*, 2015).

Tabla 2. Efecto del sistema de explotación y el nivel de producción de leche sobre el contenido (media±es) en retinol ($\mu\text{g}/\text{ml}$ de leche).

Sistema de explotación.		Nivel de producción de leche (litros/oveja y mes)	
Intensivo	0,611±0,04 ^b	>40 litros	0,28±0,09 ^b
Semi-intensivo	0,445±0,05 ^a	≥15 ≤40 litros	0,63±0,07 ^a
Extensivo	0,545±0,06 ^{ab}	<15 litros	0,66±0,10 ^a
Significación estadística	*	Sig. Estad.	*

Significación estadística: *: $p < 0,05$

El nivel de producción lechera originó diferencias importantes del contenido en retinol de la leche (Tabla 2). En las explotaciones con una producción inferior a 40 litros/oveja, se observó mayor concentración de retinol (0,66±0,10 y 0,63±0,07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de leche para unas producciones inferiores a 15 litros y de 15 a 40 litros, respectivamente) que en las explotaciones con producción superior a 40 litros (0,28±0,07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de leche). Este resultado se podría explicar por un efecto de dilución del contenido en retinol de la leche.

CONCLUSIONES

El contenido de retinol en leche de oveja varía con el nivel de producción de los animales, con el mes del año y el sistema de explotación, influenciados posiblemente por el tipo de dieta que recibe el ganado.

En las condiciones de este trabajo, el contenido en vitamina E es nulo y el de vitamina A es muy bajo, lo que invita a seguir estudiando estos parámetros, para conocer mejor las condiciones que influyen en el contenido de retinol en la leche de oveja.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado dentro del proyecto IDI PRE/917/2013 financiado por el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, en el desarrollo de los contrato de Investigación entre el ITACYL, La Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Sevilla con las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, R., Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. y Alcalde, M.J. 2014. Effect of pasture and concentrate diets on concentrations of carotenoids, vitamin A and vitamin E in plasma and adipose tissue of lambs. *Journal of Food Composition and Analysis* 36, 59-65.
- Álvarez, R., Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M., Alcalde, M.J., 2015. Carotenoid and vitamin A content in biological fluids and tissues of animals as an effect of the diet. A review, *Food Reviews International*. DOI: 10.1080/87559129.2015.1015139
- Bergamo, P., Fedele, E., Iannibelli, L. & Marzillo, G. 2003. Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chemistry* 82, 625–631.
- Butler, G., Nielsen, JH., Slots, T., Seal, C., Eyre, MD., Sanderson, R. & Leifert, C. 2008. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *Journal of Science and Food Agriculture* 88, 1431-1441.
- Ellis, K., Monteiro, A., Innocent, G.T., Grove-White, D., Cripps, P., Mclean, WG., Howard, CV. & Mihm, M. 2007. Investigation of the vitamins A and E and β -carotene content in milk from UK organic and conventional dairy farms. *Journal of Dairy Research* 74, 484-491.
- Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P., Doreau, M. 2006. Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology* 131, 418 – 450.

VITAMIN A IN EWE'S MILK: SYSTEM KIND, MONTH AND EWE'S PRODUCTION EFFECTS

SUMMARY

The concentration of retinol in sheep milk from eighteen farms for the first six months of the year has been studied. Farms were classified according to their feeding system kind and the sheep rearing system, besides the month in which milk recollected was produced was also considered. The lowest concentrations of retinol in milk were found in the previous summer months and farms with higher production (>40 liters/sheep/month) ($0.28 \pm 0.90 \mu\text{g}$ retinol/ml milk), probably due to further deterioration of this compound in the forage, which is already dry, that sheep consumed and a dilution effect, respectively. The multivariate model used considering the month of production, farm type and average milk production accounted for 89.8% of the variability of the results.

Key Words: Retinol, ewe's production, farming system, sheep, milk.

EFFECTO DEL CALENTAMIENTO DE LA CUAJADA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL QUESO DE OVEJA GUIRRA

ESCOLAR E.¹; VALERIANO A.² y RODRÍGUEZ M.¹

¹Departamento de Ciencia Animal. Universitat Politècnica de València.

²Quesería Los Corrales. Almedijar, Castellón.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar el efecto del calentamiento de la cuajada (32 *vs.* 37°C) sobre las características físico-químicas del queso de oveja Guirra a lo largo de la maduración. Para ello, se elaboraron dos tipos de queso con leche cruda de oveja Guirra empleando una temperatura de cuajado de 32°C. En un tipo de queso la cuajada permaneció a 32°C durante el desuerado, mientras que en el otro queso, después del corte de la cuajada se aumentó la temperatura a 37°C y se mantuvo durante proceso de desuerado. Los quesos se fabricaron en 3 momentos de la lactación (semanas 12, 14 y 16) y las determinaciones analíticas (composición físico química, pH y color) se realizaron en los días 1, 60, 90 y 120 del periodo de maduración. Los resultados mostraron que el calentamiento de la cuajada no afectó al contenido en grasa, proteína ni al pH del queso durante la maduración. Sin embargo originó un mayor extracto seco inicial en comparación con el queso elaborado sin calentar la cuajada. Estas diferencias se anularon a partir de los 60 días de maduración. Respecto al color, el calentamiento dio lugar inicialmente una tonalidad más amarillenta del queso y una menor luminosidad durante los primeros 90 días de maduración, pero a los 120 días ya no afectó a la luminosidad y el queso fue menos amarillento. Se concluye que el calentamiento de la cuajada tuvo poca influencia en las características físico-químicas de los quesos con más de 90 días de maduración.

Palabras clave: Queso de oveja Guirra, características físico-químicas, calentar la cuajada.

INTRODUCCIÓN

Una práctica habitual en la elaboración de muchos tipos de queso es el calentamiento de la cuajada después del corte, con el fin de ayudar en el proceso de desuerado (Lurueña-Martínez *et al.*, 2010; Farahani *et al.*, 2014). Un menor desuerado de la cuajada origina una mayor retención de humedad inicialmente en el queso, lo que podría afectar a sus características físico-químicas.

La leche de oveja Guirra forma una cuajada de gran velocidad de agregación, es compacta y la dureza media del gel formado es bastante alta (Jaramillo *et al.*, 2008). En trabajos previos con leche pasteurizada, se comprobó que el calentamiento de la cuajada originó en la oveja Guirra un queso con mayor dureza y más amarillento que en la oveja Manchega. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de dicho calentamiento sobre los parámetros físico-químicos del queso elaborado con leche cruda de oveja Guirra.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la granja de pequeños rumiantes de la Universitat Politècnica de Valencia y en la quesería “Los Corrales” (Almedijar, Castellón). Se elaboraron 2 tipos de quesos a partir de leche cruda de oveja Guirra. Se realizaron 3 fabricaciones distribuidas en 3 momentos de la lactación (semana 12, 14 y 16). Para ello, en cada fabricación se utilizaron 50 kg de leche, que se calentaron a 25°C durante 30 minutos, posteriormente se elevó la temperatura a 32°C, se le añadió un fermento iniciador (mesófilo) y cuajo de cordero (1:10000) en proporción 1 ml/7 l leche. Se esperó hasta la formación de la cuajada y se realizó el corte, alcanzando un tamaño de grano de 8 mm aproximadamente (grano de arroz). En un tipo de queso (G1), se dejó desuerar a 32°C manteniendo la temperatura de cuajado y se formaron unidades de aproximadamente 1,5 kg. En el otro tipo de queso (G2), la temperatura después del corte se aumentó a 37°C y se dejó desuerar a esa temperatura hasta el moldeado. Se consideró finalizado el desuerado cuando el líquido drenado de la cuajada era transparente. Las condiciones durante los procesos de prensado, salado y maduración en cámara (T=11°C y HR= 86%) fueron idénticas en ambos tipos de queso (G1 y G2). Todos los quesos se analizaron a los días 1, 60, 90 y 120 de maduración, determinando su composición mediante el método Van Gulik para la materia grasa, el método Kjeldahl para el nitrógeno total (TN) y mediante desecación en estufa para el extracto seco (ES). El pH se analizó por el método potenciométrico con un pHmetro Crison y el color mediante un colorímetro portátil CR300 Minolta.

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS, empleando un modelo que incluyó como efectos fijos la fabricación (1, 2 y 3), el tipo de queso (G1 y G2) y el día de maduración (1, 60, 90 y 120), así como la interacción del tipo de queso x el día de maduración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto sobre la composición físico-química y el pH

Las fabricaciones de los quesos influyeron en el contenido en grasa ($P < 0,05$) y ES ($P < 0,01$), pero no afectaron al porcentaje de proteína y al pH. En la segunda fabricación los quesos presentaron menor contenido en grasa y ES que en la primera y tercera fabricaciones.

El tipo de queso afectó significativamente ($P < 0,05$) al rendimiento quesero y al contenido inicial del queso en ES. El queso G1 presentó un mayor rendimiento quesero ($25,03 \pm 0,57\%$) que el queso G2 ($22,05 \pm 0,57\%$) y un menor contenido inicial de ES ($51,00$ vs $54,30 \pm 0,80\%$, respectivamente). Sin embargo, durante el periodo de maduración se observó un aumento continuado del ES en los dos tipos de quesos hasta los 90 días y no hubo diferencias significativas entre ellos a partir de los 60 días (Tabla 1). Por tanto, el calentamiento de la cuajada (de 32 a 37°C) dio lugar a un queso G2 más seco inicialmente, pero las pérdidas de humedad durante la maduración anularon estas diferencias de ES a partir de los 60 días entre ambos tipos de queso.

Tabla 1. Composición físico química de los quesos a lo largo del periodo de maduración.

Días maduración	Extracto Seco (%)			Grasa (% Extracto Seco)			Proteína (% Extracto Seco)		
	G1	G2	es	G1	G2	es	G1	G2	es
1	51,00 ^a	54,30 ^b	$\pm 0,80$	51,26	47,58	$\pm 1,23$	40,98	40,21	$\pm 0,62$
60	59,85 ^c	61,78 ^c	$\pm 0,80$	50,62	49,06	$\pm 1,23$	40,67	42,48	$\pm 0,62$
90	64,58 ^d	64,15 ^d	$\pm 0,80$	50,66	48,97	$\pm 1,23$	40,63	41,52	$\pm 0,62$
120	66,58 ^d	65,03 ^d	$\pm 0,80$	49,91	51,88	$\pm 1,23$	39,20	38,74	$\pm 0,62$

^{a,b,c,d}Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Respecto al contenido en grasa y proteína (% ES) de los quesos, cabe señalar que el contenido en grasa tuvo poca variación en todo el periodo experimental, mientras que el contenido en proteína fue constante en los primeros 90 días de maduración y después descendió significativamente ($P < 0,05$) a los 120 días en los dos tipos de queso. El calentamiento

de la cuajada no afectó a estos componentes del queso, ya que G1 y G2 presentaron unos valores similares durante el periodo de maduración. En la Figura 1 se observa la evolución del contenido en grasa y proteína por 100 g de queso. Se comprueba la semejanza del contenido en grasa en G1 y G2 y su aumento al avanzar la edad de maduración, en cambio, el contenido en proteína presentó una interacción significativa ($P < 0,05$) del tipo de queso con el día de maduración, y su evolución mostró algunas diferencias entre estos quesos, particularmente a los 60 días de maduración. Se comprueba que el calentamiento de la cuajada no afectó a la composición físico-química de los quesos a partir de los 60 días de maduración. Los datos de composición obtenidos son similares a los encontrados por otros autores (Cabezas *et al.*, 2007; Jaramillo *et al.*, 2008) en quesos elaborados con leche de razas de ovejas españolas.

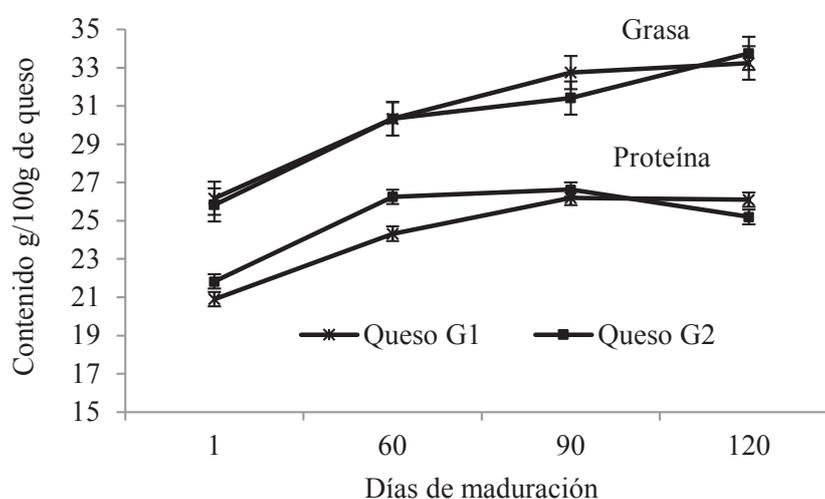


Figura 1. Evolución del contenido en grasa y proteína del queso durante su maduración.

En relación al valor de pH, un mayor tratamiento térmico de la cuajada no originó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tipos de queso. Los valores de pH de los quesos aumentaron durante los primeros 60 días de maduración (media: $4,77 \pm 0,08$ el día 1 y $5,04 \pm 0,08$ el día 60) y se mantuvieron sin cambios importantes hasta los 120 días (media: $5,14 \pm 0,08$). Esta evolución fue similar a la observada por González-Viñas *et al.* (2000) en queso Manchego.

Efecto sobre el color del queso

En cuanto al color, se observó que las distintas fabricaciones influyeron significativamente ($P < 0,001$) en los parámetros del color. Los quesos de la fabricación 3 fueron menos luminosos y amarillos, aunque estas diferencias fueron poco relevantes. En la Tabla 3 se muestran los efectos del tipo de queso y el periodo de maduración sobre los parámetros del color. La luminosidad de los quesos se redujo durante la maduración.

A medida que perdieron humedad, los quesos también perdieron luminosidad, pero ésta fue mayor en G1 que en G2 durante los primeros 90 días y no hubo diferencias significativas entre ellos a los 120 días. El parámetro *a* (color verdoso cuanto más negativo es el valor) también disminuyó en los quesos durante la maduración y las diferencias originadas por el calentamiento de la cuajada fueron poco importantes a lo largo de la maduración. El parámetro *b* (indicativo de color amarillo cuanto más alto es el valor) aumentó en los dos quesos hasta los 90 días y disminuyó ligeramente a los 120 días. Se observó una interacción significativa ($P < 0,001$) del tipo de queso con el día de maduración. Aunque inicialmente el queso G2 fue más amarillo, a los 60 y 90 días no hubo diferencias significativas entre ellos y a los 120 días el queso G1 presentó una tonalidad más amarillenta.

Tabla 3. Valores medios de los parámetros L, a y b a lo largo de la maduración.

Día	L			a			b		
	G1	G2	es	G1	G2	es	G1	G2	es
1	89,25 ^a	86,98 ^c	±0,18	-1,83	-1,97	±0,06	10,41 ^a	11,67 ^b	±0,09
60	83,70 ^b	81,18 ^d	±0,18	-2,93	-3,04	±0,06	11,72 ^{be}	11,95 ^e	±0,09
90	84,10 ^b	82,99 ^e	±0,18	-3,48	-3,66	±0,06	14,85 ^c	14,79 ^c	±0,09
120	84,03 ^b	83,61 ^b	±0,18	-3,39	-3,44	±0,06	14,28 ^d	13,94 ^f	±0,09

^{a,b,c,d} Letras distintas en un mismo componente (filas y columnas), difieren estadísticamente ($P < 0,05$).

es = error estandar

CONCLUSIONES

El mantener la cuajada a 32°C o calentarla a 37°C durante la fase de desuerado en la elaboración del queso no afectó al contenido en grasa, proteína y el pH de los quesos. Sin embargo el extracto seco el primer día de maduración aumentó con un mayor tratamiento térmico de la cuajada. Durante la maduración las diferencias de humedad a los 60 días se compensaron.

Respecto al color, el calentamiento de la cuajada a 37°C origina inicialmente un queso más amarillento y con menor luminosidad durante los primeros 90 días de maduración, pero posteriormente se corrigen estas diferencias y a los 120 días el queso presentó una tonalidad menos amarilla. Se puede concluir que el calentamiento de la cuajada tiene poca influencia en las características físico-químicas de los quesos con más de 90 días de maduración.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Consellería de Agricultura Pesca y Alimentación de la Comunidad Valenciana.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabezas, L., Sánchez, I., Poveda, J.M., Seseña, S., Palop, M.L. 2007. Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control* 18:11-17.
- Farahani, G., Ezzatpanah, H., Abbasi, S. 2014. Characterization of Siahmazgi cheese, an Iranian ewe's milk variety: Assessment of physico-chemical, textural and rheological specifications during ripening. *Food Science and Technology* 58: 335-342.
- González-Viñas, M.A., Poveda, J., Ruiz, A.G., Cabezas, L. 2000. Changes in chemical, sensory and rheological characteristics of manchego cheeses during ripening. *Journal of Sensory Studies* 16: 361-371.
- Jaramillo, D.P., Zamora, A., Guamis, B., Rodríguez, M., Trujillo, A.J. 2008. Cheesemaking aptitude of two Spanish dairy ewe breeds: Changes during lactation and relationship between physico-chemical and technological properties. *Small Ruminant Research* 78: 48-55.
- Lurueña-Martínez, M.A., Revilla, I., Severiano-Pérez, P., Vivar-Quintana, A.M. 2010. The influence of breed on the organoleptic characteristics of Zamorano sheep's raw milk cheese and its assessment by instrumental analysis. *International Journal of Dairy Technology*. 63: 216-223.

EFFECT OF CURD HEATING ON THE PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF GUIRRA SHEEP CHEESE

SUMMARY

The aim of the study was to analyze the effect of heating the curd (32 *vs.* 37°C) on the physico-chemical Guirra sheep cheese along ripening characteristics. For this purpose, two types of cheeses were elaborated from raw Guirra's milk using a setting temperature of 32°C. In one type of chesse the curd it remained at 32°C during the whey secretion, while the other, the curd was heated to 37°C. Cheeses were manufactured in three different moments of lactation (weeks 12, 14 and 16) and analytical determinations (physico-chemical composition, pH and color) were performed on days 1, 60, 90 and 120 of the ripening period. The results showed that heating the curd did not affect the fat content, protein or the pH values of the cheeses during ripening. However, this temperature produced a higher initial solids content compared to unheated processed cheese curd. These differences disappeared after 60 days of ripening. Regarding to color parameters, the curd heating produced initially a yellowish color and a lower luminosity during the first 90 days of ripening in cheeses, but after 120 days no longer affect the brightness and cheese was less yellowish. It is concluded that heating of the curd had little influence on the physicochemical characteristics of the cheese with more than 90 days of ripening .

Key words: Raw milk, Guirra sheep cheese, physico-chemical characteristics, heating the curd.

EFFECTO DEL CALENTAMIENTO DE LA CUAJADA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL QUESO DE OVEJA GUIRRA

ESCOLAR, E.¹; LÓPEZ, M.C.¹; VALERIANO A.² y RODRÍGUEZ M.¹

¹Departamento de Ciencia Animal. Universitat Politècnica de València.

²Quesería Los Corrales. Almedijar, Castellón

RESUMEN

Con el fin de determinar si el calentamiento de la cuajada en la elaboración de los quesos afecta a sus propiedades organolépticas, se elaboraron dos tipos de quesos con leche cruda de oveja Guirra (en 3 momentos de la lactación: semanas 12, 14 y 16), cuya única diferencia entre ellos fue el calentando la cuajada a 37°C en un tipo de queso, mientras el otro tipo se mantuvo a la temperatura de cuajado (32°C). Se realizaron ensayos sensoriales con consumidores no expertos a los 60 y 90 días de maduración.

Los resultados mostraron que el calentamiento de la cuajada dio lugar a un queso que fue calificado por los consumidores más duro y amarillo que el queso sin tratamiento térmico de la cuajada. Ambos tipos de queso presentaron un olor y un sabor de intensidad media alta y fueron bien aceptados por los consumidores, particularmente con un periodo de maduración de 90 días. Se puede concluir que para producir un queso madurado de 90 días, con leche de oveja Guirra, no es necesario aumentar la temperatura de la cuajada por encima de 32°C, obteniendo así un queso menos amarillo y con menor dureza.

Palabras clave: queso de oveja Guirra, calentamiento de cuajada, análisis sensorial de consumidores.

INTRODUCCIÓN

Una práctica habitual en la elaboración de muchos tipos de queso es el calentamiento de la cuajada después del corte, con el fin de ayudar en el proceso de desuerado (Lurueña-Martínez *et al.*, 2010; Farahani

et al., 2014). Un mayor desuerado de la cuajada origina un queso con más extracto seco inicialmente, que puede afectar a su textura y características sensoriales.

La leche de oveja Guirra forma una cuajada de gran velocidad de agregación, es compacta y con una dureza media del gel formado bastante alta (Jaramillo *et al.*, 2008). Se ha comprobado con leche pasterizada, que el calentamiento de la cuajada origina un queso en la oveja Guirra con mayor dureza y de color más amarillo que en la oveja Manchega (datos no publicados), lo que puede condicionar una peor aceptación del queso por los consumidores. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de dicho calentamiento sobre las características sensoriales del queso elaborado con leche cruda de oveja Guirra y su aceptación por los consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la granja de pequeños rumiantes de la Universitat Politècnica de Valencia y en la quesería “Los Corrales” (Almedijar, Castellón). Se elaboraron 2 tipos de quesos a partir de leche cruda de oveja Guirra y se realizaron 3 fabricaciones distribuidas en 3 momentos de la lactación (semana 12, 14 y 16). El procedimiento de elaboración fue idéntico al descrito por Escolar *et al.* (2015), utilizando una temperatura de cuajado de 32°C (queso G1) y la única diferencia entre los dos tipos de queso fue el calentamiento de la cuajada a 37°C en uno de ellos (queso G2).

El análisis sensorial de los quesos se realizó a los 60 y 90 días de maduración utilizando 145 consumidores en cada caso. Se siguieron las recomendaciones de la Norma UNE-EN ISO 6658 y se diseñaron 2 tipos de pruebas sensoriales, una de valoración individual para cada queso y otra de comparación por parejas. En dichas pruebas se evaluaron las características sensoriales en una escala de 10 puntos y se analizaron las preferencias de los consumidores por alguno de los quesos.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SAS. Para los datos de la prueba individual se utilizó en cada día de maduración un modelo que incluyó los factores fijos: tipo de queso (con cuajada calentada o sin calentar), tipo de consumidor (de queso suave o de queso madurado) y la interacción tipo de queso × tipo de consumidor. Para la prueba por parejas se realizaron análisis Chi cuadrado. En este trabajo sólo se analizarán las valoraciones realizadas en conjunto por los consumidores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los consumidores han encontrado diferencias significativas entre los quesos (Tabla 1) para el color ($P < 0,001$), olor ($P < 0,001$) y textura (dureza y elasticidad, $P < 0,01$), pero no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) en la persistencia de sabor, ni se ha observado una preferencia clara por ninguno de ellos.

El color fue identificado más amarillo en el queso elaborado con calentamiento de la cuajada a los 60 y 90 días de maduración. Sin embargo, las diferencias de color no influyeron en las valoraciones realizadas por los consumidores (Tabla 2), que puntuaron con valores similares a los dos tipos de queso, cuyos valores medios fueron de 6,54 y 6,70 a los 60 y 90 días de maduración, respectivamente. Las diferencias de tonalidad del color amarillo percibidas por los consumidores fueron bien aceptadas entre ellos.

Respecto al olor, se comprobó la existencia de diferencias claras entre los quesos (para el 92 y 86% de los consumidores a los 60 y 90 días, respectivamente), pero las puntuaciones asignadas a la intensidad de olor y a la aceptación o calidad de este olor no reflejaron esas diferencias. La intensidad de olor a los 60 días de maduración tendió a ser mayor en G2 que en G1 ($6,55 \pm 0,18$ vs. $6,11 \pm 0,18$; $P < 0,1$), pero a los 90 días los valores de intensidad fueron similares (media=6,85). La aceptación de este olor por los consumidores fue similar en los quesos de 60 días (media= 6,86), mientras que a los 90 días tendió a ser mejor valorada ($P < 0,1$) en G1 ($7,35 \pm 0,14$) que en G2 ($7,02 \pm 0,14$). Los quesos pueden considerarse con un olor de intensidad media alta y de buena aceptación.

En relación al sabor, los consumidores no mostraron diferencias entre los tipos de queso en su persistencia del sabor en boca, después de haber sido saboreados y deglutidos (Tabla 1). Tampoco hubo diferencias significativas entre ellos en la intensidad de sabor (Tabla 2) a los 60 y 90 días. Sin embargo, la aceptación del sabor a los 60 días tendió a ser más alta ($P < 0,1$) en el queso G2 ($7,52 \pm 0,17$) que en el G1 (7,10), mientras que a los 90 días los valores de aceptación de calidad de sabor fueron similares (media= 7,57) y bastante altos en ambos tipos de queso.

La textura de los quesos mostró diferencias perceptibles por los consumidores en dureza y elasticidad. El queso elaborado mediante calentamiento de la cuajada fue más duro y menos elástico a los 60 y 90 días de maduración. El aumento de la temperatura en el proceso de desuerado originó inicialmente un mayor contenido en extracto seco del queso (Escolar *et al.*, 2015) y también ha conducido a un queso más duro y rígido.

La aceptación global de los consumidores no mostró una tendencia clara en la elección de un tipo de queso, ni a los 60 ni a los 90 días de maduración. No obstante, se comprobó que a los 60 días el queso G2 fue preferido significativamente (el 65,7% de los casos; $P < 0,01$) por los consumidores de queso madurado, mientras que los consumidores de queso suave no presentaron ninguna predilección. Con la prolongación del periodo de maduración hasta 90 días, se observó un cambio en las preferencias del tipo de queso, ya que el queso G1 tendió a ser más elegido (el 60,6% de los casos; $P < 0,1$) por los consumidores de queso suave, mientras los consumidores de queso madurado no mostraron predilección por ninguno de ellos, pues se distribuyeron al 50% en cada tipo de queso. Es decir, los consumidores habituales de queso madurado consideraron similares ambos tipos de queso con 90 días de maduración, que también presentaron unas características físico-químicas similares (Escolar *et al.*, 2015).

Tabla 1. Frecuencia relativa (% de respuestas) de la valoración sensorial realizada por consumidores ($n = 145$) en dos tipos de queso a los 60 y 90 días de maduración.

Atributo	Variable analizada	60 días			90 días			
		Tipo de queso		Sig. Est.	Tipo de queso		Sig. Est.	
		G1	G2		G1	G2		
COLOR	¿Cuál tiene color más amarillo?	11	89	***	31	69	***	
OLOR	¿Hay diferencias de olor?	Sí = 92		***	Sí = 86		***	
	¿Qué olor prefieres?							
	Tipo de consumidor	1	51,4	48,6	ns	59,0	41,0	ns
		2	47,7	52,3	ns	50,8	49,2	ns
	Todos los consumidores	49,3	50,7	ns	54,9	45,1	ns	
SABOR	¿Cuál tiene un sabor más persistente?							
	Tipo de consumidor	1	56,6	43,4	ns	50,0	50,0	ns
		2	43,5	56,5	ns	38,9	61,1	ns
	Todos los consumidores	50	50	ns	44,4	55,6	ns	
TEXTURA	¿Cuál está más duro?							
	Tipo de consumidor	1	27,4	72,6	**	32,4	67,7	**
		2	45,6	54,4	ns	39,4	60,6	ns
	Todos los consumidores	36,6	63,4	**	36,0	64,0	**	
	¿Cuál es más elástico?							
	Tipo de consumidor	1	68,1	31,9	**	48,5	51,5	ns
		2	55,1	44,9	ns	52,2	47,8	ns
	Todos los consumidores	61,7	38,3	**	61,7	38,3	**	
Aceptación global	¿Qué tipo de queso prefieres?							
	Tipo de consumidor	1	56,8	43,2	ns	60,6	39,4	+
		2	34,3	65,7	**	50	50	ns
	Todos los consumidores	46,1	53,9	ns	55,2	44,8	ns	

*ns = no significativo; + = $P < 0,1$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$. G1: queso elaborado sin calentar la cuajada. G2: queso elaborado calentando la cuajada a 37°C. Tipo de consumidor 1: de queso suave ($n = 90$ para 60 días de maduración y $n = 71$ para 90 días). Tipo de consumidor 2: de queso madurado ($n = 55$ para 60 días de maduración y $n = 74$ para 90 días).*

Tabla 2. Efecto del tipo de queso sobre la valoración sensorial a los 60 y 90 días de maduración.

Atributo	Parámetro	60 días				90 días			
		G1	G2	± es	Sig. est.	G1	G2	± es	Sig. est.
Color	Calidad	6,43	6,66	± 0,12	ns	6,71	6,68	± 0,12	ns
Olor	Intensidad	6,11	6,55	± 0,18	+	6,86	6,84	± 0,16	ns
	Calidad	6,69	7,02	± 0,16	ns	7,35	7,02	± 0,14	+
Sabor	Intensidad	6,79	7,04	± 0,17	ns	7,03	7,23	± 0,15	ns
	Calidad	7,10	7,52	± 0,17	+	7,67	7,47	± 0,12	ns

CONCLUSIONES

El queso elaborado con leche cruda de oveja Guirra, obtenido mediante calentamiento de la cuajada a 37°C durante la fase de desuerado, fue calificado por los consumidores más duro y amarillo que el queso cuya temperatura de la cuajada se mantuvo a 32°C. Ambos tipos de queso presentaron un olor y un sabor de intensidad media alta y fueron bien aceptados por los consumidores, particularmente con un periodo de maduración de 90 días. Se puede concluir que para producir un queso madurado de 90 días, con leche de oveja Guirra, no es necesario aumentar la temperatura de la cuajada por encima de 32°C, obteniendo así un queso menos amarillo y con menor dureza.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Consellería de Agricultura Pesca y Alimentación de la Comunidad Valenciana.

BIBLIOGRAFÍA

- Escolar, E.; Valeriano, A. y Rodríguez, M. 2015. Efecto del calentamiento de la cuajada sobre las características físico-químicas del queso de oveja Guirra. SEOC 2015, Castellón.
- Farahani, G.; Ezzatpanah, H.; Abbasi, S. 2014. Characterization of Siahmazgi cheese, an Iranian ewe's milk variety: Assesment of physico-chemical, textural and rheological specifications during ripening. Food Science and Technology 58: 335-342.
- Jaramillo D.P., Zamora A., Guamis B., Rodríguez M., Trujillo A.J. 2008. Cheesemaking aptitude of two Spanish dairy ewe breeds: Changes during lactation and relationship between physico-chemical and technological properties. Small Ruminant Research 78: 48-55.
- Lurueña-Martínez, M.A.; Revilla, I.; Severiano-Pérez, P.; Vivar-Quintana, A.M. 2010. The influence of breed on the organoleptic characteristics of Zamorano sheep's raw milk cheese and its assessment by instrumental analysis. International Journal of Dairy Technology. Vol 63, N° 2: 216-223.

EFFECT OF CURD HEATING ON THE ORGANOLEPTIC CHARACTERISTICS OF GUIRRA SHEEP CHEESE

SUMMARY

In order to determine if heating the curd in cheesemaking affect its organoleptic properties, two types of cheese from raw milk sheep Guirra were developed (in 3 moments of lactation: Weeks 12, 14 and 16), the only difference between them was that in one of the cheese the curd was heated at 37°C, while in the other one was maintained at the setting temperature (32°C). Sensory tests with consumers not experts at 60 and 90 days of ripening were performed.

The results showed that heating the curd result in a cheese that was described by consumers as harder and more yellow than the cheese without heat treatment curd. Both types of cheese had a smell and a taste of medium-high intensity and were well accepted by consumers, particularly with a maturation period of 90 days. It can be concluded that to produce a 90-day matured cheese, sheep's milk Guirra is not necessary to increase the temperature of the curd above 32°C, obtaining a less yellow and less hard cheese.

Key words: Guirra sheep cheese, curd heating, sensory analysis of consumers.

MARTÍNEZ, A.*; ESCOLAR, E.; ROMERO, T.; PÉREZ-BAENA, I. y PERIS, C.

Institut de Ciència i Tecnologia Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

*almarga8@etsmre.upv.es

RESUMEN

Se realizó un estudio sobre la variabilidad de los parámetros de la calidad de la leche cruda de cabra que se analizan habitualmente en los laboratorios interprofesionales. Para ello se emplearon 8097 muestras de leche de cabra procedentes de 206 explotaciones que fueron analizadas en el Laboratori Interprofesional Lleter de la Comunitat Valenciana (LICOVAL). Los resultados mostraron que el punto de congelación y la lactosa fueron los parámetros estudiados con menor variabilidad (CV de 2,86% y 3,99%, respectivamente). Se podrían considerar como muestras sospechosas de presentar alguna alteración aquellas que tuvieran un punto de congelación inferior a 440 $-m^{\circ}C$ o superior a 480 $-m^{\circ}C$, o un contenido en lactosa inferior al 4% o superior al 5%. En estos casos, el laboratorio debería realizar análisis específicos para determinar la presencia de posibles fraudes (no explicados por la adición de agua a la leche).

Palabras clave: Leche de cabra, punto crioscópico, lactosa, laboratorio interprofesional.

INTRODUCCIÓN

Los laboratorios interprofesionales analizan las muestras de leche de tanque de los ganaderos determinando en rutina los siguientes parámetros: grasa, proteína bruta, lactosa, extracto seco magro, recuento de células somáticas, recuento de gérmenes totales y el punto crioscópico

o de congelación (además de la presencia/ausencia de inhibidores). De todos ellos, se considera que la lactosa y el punto crioscópico son los que presentan una menor variabilidad en la leche ordeñada (Walstra y col., 2001).

El punto crioscópico o de congelación se define como la temperatura única en la cual coexisten en equilibrio una fase líquida con otra cristalina correspondiente al hielo. En la leche, el punto de congelación depende principalmente del contenido en sustancias disueltas, es decir, lactosa y sales (Janstová *et al.*, 2007). Ambos determinan su presión osmótica, siendo similar a los fluidos orgánicos del animal (principio homeostasis), por lo que se mantiene relativamente constante sujeto a poca variación fisiológica. La presencia de estas sustancias en disolución hace que el punto de congelación de la leche se sitúe por debajo de los 0°C. No obstante, también existen otros factores que pueden aumentar la concentración de sustancias disueltas en la leche y, por tanto, disminuir su temperatura de congelación: presencia de enfermedades como la mastitis o tuberculosis (mayor transferencia de cloro i sodio a la leche) o el aumento de acidez de la leche por la fermentación de la lactosa por los microorganismos (formación de dos moles ácido láctico por cada mol de lactosa fermentada; Walstra *et al.*, 2001). La determinación del punto crioscópico en los laboratorios se realiza para detectar la presencia de agua añadida a la leche, ya que este fraude provoca que el punto de congelación se acerque hacia los 0°C. Además, el aguado de la leche también provocará una dilución del resto de componentes, lo cual podría ser más fácilmente detectable en la lactosa, dada su menor variabilidad en comparación con el resto de componentes de la leche.

Existen otras adulteraciones de la leche (adición leche en polvo, sacarosa, cloruro sódico etc..) que afectan al punto crioscópico y la lactosa. Aunque existen análisis específicos para detectarlos no se realizan en rutina en los laboratorios interprofesionales. Por tanto, cuando en estos dos parámetros aparecen valores fuera del rango habitual, surge la duda si están causados por una adulteración de la leche. Por ello, el objetivo de este estudio ha sido conocer la variabilidad del punto crioscópico y la lactosa en la leche de cabra, con el objeto de estimar unos límites de cribado para identificar muestras sospechosas de leche alterada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó a partir de 8097 muestras de leche de cabra de tanque tomadas durante el año 2012 y 2013 en la Comunitat Valenciana. Estas muestras (40 ml) se tomaron directamente del tanque de refrigeración de las explotaciones caprinas (n=207) por parte de los

transportistas de las industrias lácteas y/o queserías artesanales (n=26) durante la recogida de la leche.

Tras la recogida, las muestras se transportaban en refrigeración (4-8°C) hasta el laboratorio interprofesional. De cada una de las muestras de leche se analizó la grasa, proteína, lactosa y extracto seco magro mediante el equipo automático MilkoScan FT6000 (Foss, Hillerød, Dinamarca), el recuento de células somáticas (RCS) empleando el método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic 5000; Foss) y el punto de congelación o crioscópico por el método del crioscopio termistor (Criostar 2 automatic, Funke Gerber, Berlín, Alemania). Todos los análisis se realizaron en LICOVAL (Laboratori Interprofessional Lleter de la Comunitat Valenciana).

El análisis descriptivo de los datos se llevó a cabo con el procedimiento PROC MEANS y PROC UNIVARIATE del paquete estadístico SAS (SAS 2008). Las correlaciones entre parámetros se calcularon con el PROC CORR. Los resultados del punto crioscópico se expresaron en -m°C (ej. -0,540 °C = 540 -m°C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como se aprecia en la Tabla 1, los parámetros de la leche con menor variabilidad (menor coeficiente de variación) fueron el punto de congelación (CV=2,86%), la lactosa (3,99%) y el Extracto Seco Magro (5,55%). Los coeficientes de variación de la proteína (9,77) y de la grasa (14,66) fueron sensiblemente más elevados. Estos resultados, en cuanto al orden de variabilidad de los componentes de la leche, coinciden con lo señalado por Walstra y Jenness (1987).

Tabla 1. Valores de composición, punto de congelación y RCS en muestras de leche de cabra de tanque analizadas en LICOVAL en los años 2012 y 2013 (n=8097).

Parámetro	Media	DS ¹	CV ²	Min ³	Q1 ⁴	Q3 ⁵	95% ⁶	99% ⁷	Max ⁸
Grasa (%)	5,36	0,79	14,66	2,94	4,80	5,84	9,72	7,60	9,79
Proteína (%)	3,69	0,36	9,77	2,56	3,45	3,86	4,33	4,90	6,83
EQ (%) ¹¹	9,05	1,06	11,70	6,27	8,30	9,65	10,914	12,23	15,88
Lactosa (%)	4,59	0,18	3,99	3,25	4,50	4,71	4,87	4,96	5,18
ESM (%) ⁹	9,18	0,51	5,55	7,07	8,83	9,46	10,12	10,57	12,59
RCS (x10 ⁶ cell/ml) ¹⁰	1939	1069	55,10	50	1243	2345	3922	6028	9808
P.crioscópico (-m°C)	557	16	2,86	342	552	563	571	600	733

¹DS: desviación estándar; ²CV: coeficiente de variación %; ³Min: Mínimo; ⁴Q1: primer cuartil; ⁵Q3: tercer cuartil; ⁶95%: percentil orden 95; ⁷99%: percentil orden 99; ⁸Max: Máximo; ⁹ESM: extracto seco magro; ¹⁰RCS: recuento células somáticas; ¹¹EQ: Extracto Quesero (Grasa+Proteína).

El punto de congelación se situó entre 342 y 733 $-m^{\circ}C$. Si consideramos que por debajo de 540 $-m^{\circ}C$ existe la seguridad de que se ha añadido agua a la leche (Park *et al.*, 2007; datos propios de LICOVAL), en la Figura 1a se aprecia que este fraude se detectó en el 5,2% de las muestras. Por el contrario, también se observa que el 1,9% de las muestras tuvieron un punto de congelación superior a 580 $-m^{\circ}C$, lo que podría significar que estas muestras presentaban algún tipo de alteración, como por ejemplo un exceso de azidiol (Sánchez *et al.*, 2005; datos propios de LICOVAL), leche acidificada (Walstra *et al.*, 2001), leche mamítica o algún tipo de adulteración.

La lactosa se situó entre 3,25 y 5,18%. En la Figura 1b se observa que el 0,74% de las muestras tuvieron un contenido en lactosa inferior al 4%. Los aspectos que podrían explicar este bajo porcentaje de lactosa podrían ser: un elevado porcentaje de animales con mamitis (Martínez, 2000) o leche procedente de animales en proceso de secado (datos propios LICOVAL). También se observa que tan solo el 0,54% de las muestras presentaron valores de lactosa superiores al 5%, lo que también podría indicar que son muestras con algún tipo de alteración o adulteración.

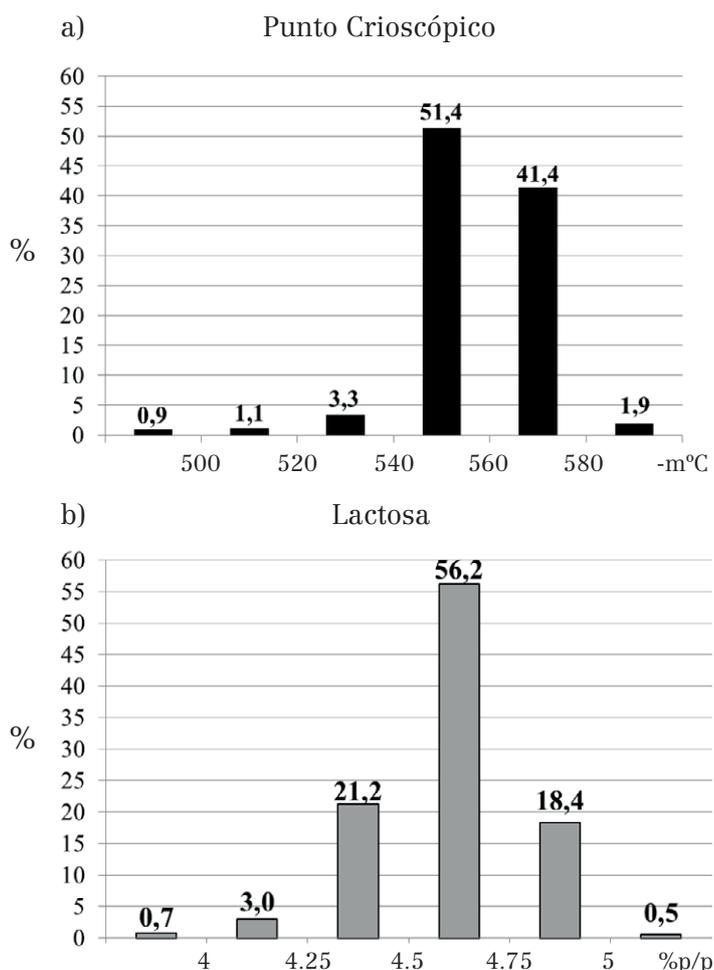


Figura 1. Distribución porcentual de los valores del punto de congelación y de la lactosa en muestras de leche de cabra de tanque (n=8097).

El parámetro que estuvo más correlacionado con el punto de congelación fue la lactosa (Tabla 2), lo cual coincide con lo encontrado por Janstová *et al.* (2007). No obstante, podemos destacar que, con valores bajos de punto de congelación (< 540 -m°C), la correlación con la lactosa fue positiva ($r=+0.7$), es decir, a medida que disminuye el punto de congelación (en -m°C) también disminuye la lactosa, lo cual sería coherente con la existencia de aguado en la leche. Por el contrario, con valores altos de punto de congelación (> 570 -m°C) la correlación con la lactosa fue negativa ($r=-0.5$), es decir, al aumentar el punto de congelación por encima de 570 la lactosa también tiende a disminuir. Una posible explicación sería que la mayoría de estas muestras estaban acidificadas (los microorganismos atacan la lactosa, por tanto disminuye; paralelamente se produce ácido láctico, lo cual ocasiona un aumento del punto de congelación, en -m°C) o que fueran muestras de rebanoes en proceso de secado.

CONCLUSIONES

De todos los parámetros analizados, el punto de congelación y la lactosa fueron los que tuvieron un menor coeficiente de variación. Se consideró como muestras sospechosas de presentar alguna alteración aquellas que tuvieran un punto de congelación inferior a 540 -m°C o superior a 580 -m°C, o un contenido en lactosa inferior al 4% o superior al 5%. En los casos no explicados por la adición de agua a la leche, el laboratorio debería realizar análisis específicos para determinar la presencia de posibles fraudes.

Tabla 2. Coeficientes de correlación entre el punto de congelación y las variables analíticas en muestras de leche de cabra agrupadas según su punto de congelación.

Punto de Congelación (-m°C)	VARIABLES						
	n	Grasa (%p/p)	Proteína (%p/p)	Ext. Ques. (%p/p)	Lactosa (%p/p)	ESM (%p/p)	RCS (*1000 céls/ml)
<540	(429)	0,00 ^{NS}	0,13	0,05 ^{NS}	0,70	0,39	0,06 ^{NS}
540-570	(7139)	0,07	0,10	0,09	0,33	0,18	-0,12
>570	(469)	-0,19	0,00 ^{NS}	-0,14	-0,50	-0,27	0,01 ^{NS}
TOTAL	(8097)	0,03	0,11	0,06	0,34	0,19	-0,07

Todos los coeficientes de correlación fueron significativos ($p<0,01$), excepto en aquellos con el superíndice NS ($p>0,05$).

BIBLIOGRAFÍA

- Janstová, B., Dracková, M., Navrátilová, P., Hadra, L., Vorlová, L. (2007). Freezing point of raw and heat-treated goat milk. *Czech J. Anim. Sci.* 52: 394-398.
- Martínez, B. (2000). El recuento de células somáticas en la leche de cabra: factores de variación y efecto sobre la producción y composición de la leche. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València.
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.* 68: 88-113.
- Sánchez, A., Sierra, D., Luengo, C., Corrales, J.C., Morales, C.T., Contreras, A., Gonzalo, C. (2005). Influence of storage and preservation on Fossomatic cell count and composition of goat milk. *J. Dairy Sci.* 88: 3095-3100.
- Walstra, P., Jenness, R. (1987). Química y física lactológica. Ed. Agribia S.A., Zaragoza, España.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M.A.J.S. (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España.

VARIABILITY ON THE FREEZING POINT AND LACTOSE CONTENT IN GOAT FROM THE COMUNIDAD VALENCIANA

SUMMARY

A study on the variability of quality parameters of raw goat milk usually analysed in the control laboratories was performed. To do this, 8097 goat milk samples from 206 farms were analysed in the Laboratori Interprofessional Lleter de la Comunitat Valenciana (LICOVAL). The results showed that the freezing point (CV = 2.86%) and lactose (CV = 3.99%) were the parameters studied with less variability, considering samples suspected of adulteration with a freezing point value $<540 -m^{\circ}C$ or $>580 -m^{\circ}C$, and lactose $<4\%$ or $>5\%$. Therefore, when the control laboratories in routine testing detect a sample suspected of adulteration or alteration, specific analysis should be performed to determine the presence of a possible fraud.

Key words: Goat's milk, freezing point, lactose, control laboratory.

ESTUDIO DE LA ADICIÓN DE CLORURO SÓDICO, SACAROSA Y LECHE EN POLVO A LA LECHE CRUDA DE CABRA PARA ENMASCARAR LA PRESENCIA DE AGUA AÑADIDA

MARTÍNEZ, A.*; ESCOLAR, E.; ROMERO, T.; PEREZ-BAENA, I. y PERIS, C.

Institut de Ciència i Tecnologia Animal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n. 46022 Valencia.

*almarga8@etsmre.upv.es

RESUMEN

Se estudió el efecto de la adición de cloruro sódico, sacarosa y leche en polvo, a distintas concentraciones, con objeto de enmascarar el aguado de la leche. Los resultados confirmaron que estas tres sustancias permitían enmascarar el agua añadida si se incorporaban a una concentración que permitiera obtener un punto de congelación de entre $-0,540$ y $-0,580^{\circ}\text{C}$; no obstante, cuando se añadía en exceso el punto de congelación se situaba en niveles de muestra alterada ($<-0,580^{\circ}\text{C}$). La adición de las tres sustancias señaladas anteriormente también afectó significativamente a los análisis de grasa, proteína, lactosa y extracto seco magro; sin embargo, no afectó al RCS ni al análisis de inhibidores (todos negativos). El estudio económico mostró que aplicando estas adulteraciones los ganaderos obtendrían un escaso (leche en polvo) o prácticamente nulo (cloruro sódico o sacarosa) incremento de ingresos, y existiría un riesgo de que fueran identificadas en el laboratorio como muestras alteradas.

Palabras clave: Leche de cabra, adulteración, composición, punto crioscópico.

INTRODUCCIÓN

Entre las prácticas fraudulentas más comunes en la producción de leche destaca la adulteración de la misma mediante la adición de agua para

aumentar su volumen. El análisis del punto de congelación se considera uno de los procedimientos más exactos para identificar esta adulteración. En la leche de cabra el punto de congelación varía entre -0.540 y -0.572°C (Park *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2015). Valores superiores a -0.540°C (más cercanos a 0°C) indicarían que se ha añadido agua a la leche.

Para enmascarar la adulteración con agua, disminuyendo la temperatura de congelación de la leche, los ganaderos podrían recurrir a la adición a la leche de otras sustancias como el cloruro de sódico, sacarosa, orina, gelatina, glucosa, almidón y féculas a la leche (Casado, 1991; Calderón *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio ha sido evaluar el efecto de tres adulteraciones en la leche de cabra, que enmascaran la adición de agua, sobre los análisis realizados habitualmente en los laboratorios interprofesionales y el precio de la leche que perciben los ganaderos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon como sustancias adulterantes el cloruro sódico (NaCl; sal común), la sacarosa (SA; azúcar blanco de mesa) y la leche en polvo (LP; Nanta Milk Creme). Se ensayaron 6 concentraciones de NaCl (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 y 0,25%), 6 de SA (0; 0,5; 1; 1,5; 2 y 2,5%) y 4 de LP (0; 0,5; 1 y 1,5%). Cada sustancia fue estudiada en un experimento distinto. Los tres experimentos tuvieron el mismo diseño factorial: 4 ó 6 concentraciones de la sustancia adulterante x 6 concentraciones de agua añadida (0, 2, 5, 10, 15 y 20%). A partir de una muestra de leche de cabra de unos 3 litros de volumen, procedente del tanque de la granja de la UPV (con garantías de no contener agua añadida), se obtuvieron 24 ó 36 alícuotas (según el experimento) de 40 ml en frascos de polipropileno de 50 ml de capacidad. A cada alícuota se le asignó, al azar, una de las 24 ó 36 combinaciones de la sustancia adulterante y agua añadida estudiadas (experimento de LP: 4x6; experimentos NaCl y SA: 6x6).

En cada alícuota se analizó la grasa, proteína, lactosa y extracto seco magro (MilkoScan FT600; Foss, Hillerød, Dinamarca), el recuento de células somáticas (Fossomatic 5000; Foss), el punto de congelación (Criostar 2 automatic, Funke Gerber, Berlín, Alemania) y la presencia/ausencia de antibióticos mediante el método Eclipse 100 (ZEULAB S.L., Zaragoza, España). Todos los análisis se realizaron por triplicado en el Laboratori d'Anàlisi de Llet de la Universitat Politècnica de València (LICOVAL). Todas las variables cuantitativas fueron analizadas estadísticamente con el PROC GLM (SAS, 2008) con un modelo que contempló los efectos fijos

de la concentración de la sustancia adulterante, la concentración del agua añadida y su interacción.

También se llevó a cabo un estudio económico, para valorar la ganancia o pérdida que percibe el ganadero tras realizar las adulteraciones estudiadas. Se calculó la diferencia de precio que recibiría por litro de leche producida (antes de la adulteración) en cada una de las concentraciones de las adulteraciones. Se consideraron los siguientes cálculos:

[1] Precio leche no adulterada (€/L)= 0.07 x EQ_{ref}

[2] Precio leche adulterada (€/L)= 0.07 x EQ_{adult} x (1+V) – coste adulteración

[3] Diferencia de precio al realizar la adulteración= [2] - [1].

Siendo: 0,07= € por extracto seco (grasa+proteína); EQ_{ref}= extracto seco leche sin adulterar; EQ_{adult}= extracto seco leche adulterada; V=incremento de volumen/litro de leche en la adulteración; coste sustancia adulterante: NaCl= 0,21€/kg; SA= 0,85€/kg y PL= 2,2€/kg.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición de las tres sustancias adulterantes provocaron un descenso (en °C) significativo (p<0,001) del punto de congelación de la leche, lo que permitió enmascarar la presencia de agua añadida. En la Tabla 1 se han recogido tan solo los resultados correspondientes a 4 concentraciones de las sustancias adulterantes y 4 concentraciones de agua añadida.

Tabla 1. Punto de congelación (-m°C) en alícuotas de leche de cabra de tanque, según la cantidad de cloruro sódico (NaCl), sacarosa (SA), leche en polvo (LP) y agua añadida.

NaCl (%)	Agua (%)				SA (%)	Agua (%)				LP (%)	Agua (%)			
	0	5	10	20		0	5	10	20		0	5	10	20
0	552 ^d	527 ^d	501 ^d	453 ^d	0	554 ^d	530 ^d	502 ^d	461 ^d	0	556 ^d	528 ^d	503 ^d	469 ^d
0,05	632 ^c	596 ^c	570 ^c	520 ^c	0,5	588 ^c	559 ^c	532 ^c	488 ^c	0,5	622 ^c	591 ^c	568 ^c	525 ^c
0,1	716 ^b	672 ^b	637 ^b	588 ^b	1	624 ^b	591 ^b	563 ^b	514 ^b	1	684 ^b	679 ^b	626 ^b	581 ^b
0,15	782 ^a	749 ^a	712 ^a	659 ^a	1,5	652 ^a	619 ^a	590 ^a	537 ^a	1,5	747 ^a	719 ^a	691 ^a	627 ^a
ES	0,5	0,5	0,5	0,5	ES	0,6	0,6	0,6	0,6	ES	0,9	0,9	0,9	0,9
Niv. Sig.	***	***	***	***	Niv. Sig.	***	***	***	***	Niv. Sig.	***	***	***	***

NaCl: cloruro sódico; SA: sacarosa; LP: leche en polvo; ES: error estándar de la media; Niv. Sig: nivel significación; *** efecto significativo (p<0,001); ^{a,b,c,d}: letras distintas en una misma columna indica diferencias significativas (p<0,05).

La tres sustancias ensayadas también afectaron significativamente ($p < 0,001$) a los análisis de composición de la leche (grasa, proteína, extracto quesero, lactosa y extracto seco magro), pero no afectaron al RCS ni a los análisis de inhibidores (todos negativos). Respecto a los resultados analíticos de la grasa, proteína y extracto quesero, la adición de cloruro sódico y sacarosa tuvieron el mismo efecto: descenso de la grasa y extracto quesero (0,01 a 0,03% para el NaCl y 0,03 a 0,17 % con la sacarosa) y ligero aumento de la proteína (0,01 a 0,03%). En el caso de la adición de leche en polvo (Tabla 2) se produjo un aumento de los tres componentes, siendo esta variación mucho más importante que en el caso de la adición de cloruro sódico y sacarosa. Respecto al ESM, la adición de las tres sustancias estudiadas provocó la elevación de este componente, siendo este aumento mayor para la leche en polvo (hasta 2.0 %; Tabla 2), que para la sacarosa (1,5 %) y el NaCl (0,04 %). Finalmente, la lactosa aumentó al añadir sacarosa (0,4 a 2,0 %) y leche en polvo (0,4 a 1,2%; Tabla 4), mientras que disminuyó muy ligeramente cuando se añadió NaCl (0,004 a 0,03%).

Como era de esperar, la adición de agua a la leche provocó, en los tres experimentos realizados, un incremento significativo ($p < 0,001$) del punto de congelación (en °C) y un descenso significativo ($p < 0,001$) de la composición y el RCS. Aunque las interacciones Concentración sustancia adulterante x Concentración de agua añadida fueron significativas para todos los componentes estudiados (excepto RCS), las tendencias descritas anteriormente del efecto de las sustancias adulterantes no variaron con el nivel de agua añadida.

Un aspecto importante a destacar es que si estos adulterantes se añaden en una concentración adecuada para situar el punto de congelación en valores normales de la leche de cabra (-0,540 a -0,580 °C), con los análisis rutinarios de un laboratorio no sería posible identificar estas muestras doblemente adulteradas (CS o SAC o LP, junto con agua añadida). No obstante, si estas sustancias se añaden en cantidad excesiva sí que sería posible su detección como muestra sospechosa, porque se eleva excesivamente el punto de congelación (inferior a -0,580 °C) y, en el caso de la adición de sacarosa y leche en polvo, también se obtienen valores muy elevados de lactosa (superiores al 5%).

Tabla 2. Valores medios de la composición y el recuento de células somáticas en la leche de cabra de tanque, según la cantidad de leche en polvo añadida (media de todos los niveles de aguado).

Leche en polvo (%)	Variable						
	Grasa (%p/p)	Proteína (%p/p)	EQ (%p/p)	Lactosa (%p/p)	ESM (%p/p)	RCS (*1000céls/ml)	PC (-m°C)
0	5,058 ^d	3,502 ^d	8,560 ^d	4,431 ^d	8,787 ^d	885	515 ^d
0,5	5,232 ^c	3,711 ^c	8,943 ^c	4,861 ^c	9,492 ^c	913	576 ^c
1	5,411 ^b	3,928 ^b	9,338 ^b	5,296 ^b	10,219 ^b	941	642 ^b
1,5	5,561 ^a	4,121 ^a	9,683 ^a	5,664 ^a	10,862 ^a	978	698 ^a
ES	0,004	0,003	0,003	0,014	0,012	5,1	0,4
Niv.Sig.	***	***	***	***	***	NS	***

EQ: extracto quesero; ESM: extracto seco magro; RCS: recuento células somáticas; PC: punto crioscópico; ES: error estándar de la media; *** Efecto significativo ($p < 0,001$); NS: Efecto no significativo ($p > 0,05$); ^{a,b,c,d,e,f,g} : letras distintas en una misma columna indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

Estudio económico

La adición exclusivamente de agua (0% de las otras sustancias) apenas afectó a los ingresos que obtendrían los ganaderos, dado que el resultado analítico del extracto quesero disminuyó en una proporción bastante similar al aumento del volumen de la leche aguada. Por ejemplo, al añadir exclusivamente un 20% de agua a la leche se obtuvo un incremento del precio de la leche entre 0,9 y 2 céntimos de euro por cada litro de leche comercializado (antes del aguado).

La adición de cloruro sódico o de sacarosa, junto a la adición de agua, no tiene un efecto económico favorable para el ganadero, dado que el precio de la leche que percibiría apenas se modifica (1 céntimo de euro por litro), e incluso en muchos casos empeora. En el caso de la leche en polvo, con o sin adición de agua, se observa un balance económico un poco más positivo (a los precios actuales), con incrementos de hasta 6 céntimos de euro por litro de leche comercializada. Pero sería muy probable que esta doble adulteración fuera detectada en el laboratorio (valores excesivamente elevados del punto de congelación y lactosa).

CONCLUSIONES

La adición de cloruro sódico, sacarosa y leche en polvo permite enmascarar la presencia de agua añadida, si bien cuando se añaden en exceso el punto de congelación se sitúa en niveles de muestra alterada

(< -0,580 °C). Estas sustancias también afectan a los análisis de grasa, proteína, lactosa y ESM; sin embargo, en las concentraciones ensayadas, no afectan al RCS ni al análisis de inhibidores.

El estudio económico mostró que, aplicando estas adulteraciones, los ganaderos obtendrían un escaso (leche en polvo) o prácticamente nulo (cloruro sódico, sacarosa, agua añadida) incremento de ingresos, y existiría riesgo de que fueran identificadas en el laboratorio como muestras alteradas.

BIBLIOGRAFÍA

Calderón, A., Virginia, C., Martínez, N. (2013). Determinación de adulterantes en leches crudas acopiadas en procesadoras de quesos en Montería (Córdoba). *Orinoquia*. 17: 202-206.

Casado, P. (1991). Guía para el análisis químico de la leche y los derivados lácteos. Ed. AYALA S.L., Madrid, España.

Martínez, A., Escolar, E., Romero, T., Perez-Baena, I., Peris, C. (2015). Estudio de la adición de cloruro sódico, sacarosa y leche en polvo a la leche cruda de cabra para enmascarar la presencia de agua añadida. Enviado al XL Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Septiembre 16-18, Castellón de la Plana, España.

Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.* 68: 88-113.

STUDY OF THE ADDITION OF SODIUM CHLORIDE, SACCHAROSE AND MILK POWDER IN RAW GOAT MILK TO MASK THE PRESENCE OF WATER ADDED

SUMMARY

The effect of addition of sodium chloride, saccharose and milk powder at different concentrations, in order to mask the presence of water in milk, was evaluated. The supplementation of the three substances in milk allowed the mask of the water addition obtaining values of freezing point ranging from -0,540 to -0,580°C. Excessive amounts were reflected in abnormal values of freezing point ($< -0,580^{\circ}\text{C}$). The concentrations studied had a significant effect in the analysis of fat, protein, lactose and dry matter content; however, did not affect the RCS and antibiotic analysis. The economic study showed that farmers could obtain limited or almost no increase of income; moreover there is a considerable risk to be identified in the control laboratories.

Key words: Goat's milk, adulteration, composition, freezing point.



PATOLOGÍA



PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN HATOS CAPRINOS DE PRODUCCIÓN FAMILIAR EN MATEHUALA, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO

GUERRERO-LOREDO, A.^{1*}; VELÁZQUEZ-ORDOÑEZ, V.³;
REBOLLO-HERNÁNDEZ, J.²; ACOSTA-DIBARRAT, J.³;
VALLADARES-CARRANZA, B.³; BARBABOSA-PLIEGO, A.³ y
BEDOLLA-CEDENO, C.⁴

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAT.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAEM.

³Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal.

⁴Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UMSNH.

*ara_guerrero7@hotmail.com

RESUMEN

Se obtuvieron al azar 554 muestras de leche de cabra en la región sur de Matehuala, San Luis Potosí, México; se realizó la prueba de mastitis California y el aislamiento bacteriológico. Los resultados se evaluaron por la prueba de estimación de proporciones ($p < 0.05$). La prevalencia instantánea de mastitis subclínica y clínica fue de 14,65 % y del 2,37% respectivamente. Los medios glandulares negativos fueron 43,09%. Las reacciones frecuentes de la prueba de California fueron de trazas y uno (14,42 % y 15,35% respectivamente). La tasa de positividad general al aislamiento microbiano fue del 34,19%. La tasa de positividad general al aislamiento en los rebaños fue del 60,6%. Los agentes identificados asociados a la mastitis subclínica fueron: *Staphylococcus aureus* (29,73%) y *Staphylococcus coagulasa* negativos (27,93%). En menor proporción bacterias coliformes (1,6%), *Micrococcus* spp. (1,35%), *Bacillus* spp. (1,0%), *Streptococcus* spp. y levaduras (0,4%). Los agentes más frecuentes aislados en asociación con la presencia de mastitis subclínica determinadas por la prueba de California en los hatos caprinos de la región de Matehuala fueron: *S. aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos, *E. coli*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis* y levaduras.

Palabras clave: Mastitis, cabra, leche, patógenos

INTRODUCCIÓN

La adaptabilidad de las cabras en ambientes con poco potencial agrícola y productivo para otros productores de alimentos. La producción contribuye sustancialmente al desarrollo socio económico de las áreas marginadas semidesérticas y desérticas. La mastitis es ocasionada por patógenos infecciosos en los hatos caprinos durante la lactancia y el periodo seco. La infección glandular afecta la composición nutricional de la leche y disminuye la producción lechera y la inocuidad. El diagnóstico oportuno de la enfermedad en el hato lechero limita el daño glandular mamario y la pérdida en la producción. Al evitar mayores costos por tratamiento y la contaminación de la leche que afectan la economía de la producción. La mastitis caprina se caracteriza por una afección evidente de la ubre y alteraciones de la leche; la forma subclínica produce una inflamación glandular crónica, sin manifestaciones clínicas y reducción considerable la producción de leche con conteos celulares elevados y alteraciones físico-químicas en la leche. La mastitis subclínica, generalmente pasa desapercibida al productor con pérdidas importantes en la producción diaria de leche e incremento en los costos de producción de la unidad. El aumento de células somáticas en la leche de la cabra es atribuida a diferentes causas infecciosas y de naturaleza fisiológica en los animales lactantes. La prueba de mastitis de California, se considera útil en el diagnóstico de campo en la detección del padecimiento en los rebaños caprinos lecheros. El presente estudio se realizó para identificar los agentes causales de la mastitis caprina en la región sur de San Luis Potosí, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, de hatos caprinos localizados en el altiplano sur en Matehuala, San Luis Potosí, México. Se obtuvieron 554 muestras individuales de leche de los medios glandulares, para realizar el aislamiento y la prueba de mastitis de California, las reacciones se interpretaron como negativas, traza, uno, dos y tres. Se recolectaron asépticamente muestras compuestas de leche de los medios glandulares en tubos estériles conservados a 4°C para su estudio en el laboratorio de microbiología del CIESA-UAEM. El aislamiento e identificación de los agentes se realizó en placas de agar sangre, McConkey y manitol sal agar. Incubadas a 37°C durante 18-24 h. Los aislamientos por procedimientos de rutina bacteriológica, la identificación final se realizó con los sistemas de Api-Staph y Api-20 E para su identificación final.

RESULTADOS

Se estudiaron 17 rebaños caprinos lecheros y de doble propósito de los que se obtuvieron 554 muestras de leche. La frecuencia de mastitis subclínica fue de 14,65% y clínica del 2,37%. El 43,09 % de medios glandulares fueron negativos. La distribución (%) de las reacciones a la prueba de California fue: trazas 13,42, uno 15,35, dos 5,85 y tres 9,70. La tasa de positividad general al aislamiento microbiano fue del 34,19%. Los principales agentes identificados (%) asociados a mastitis subclínica fueron: *Staphylococcus aureus* en mayor proporción 29,73, *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN) 27,93, bacterias coliformes 1,6, *Micrococcus* spp. 1,35, *Bacillus* spp. 1,0, *Streptococcus no agalctiae* y levaduras 0,4. La tasa de positividad general de los rebaños fue del 60,6%. Los principales agentes identificados en las reacciones de la prueba de California fueron: *S. aureus* y los SCN.

DISCUSIÓN

La prueba de mastitis California permite el diagnóstico de campo de la mastitis subclínica en el rebaño ovino y caprino, considerando el conteo celular somático de la cabra (Bazán *et al.*, 2009). Las diferencias en el nivel de células somáticas de la leche caprina también pueden estar relacionadas con factores no infecciosos: la etapa de producción y el manejo muestran niveles normales entre 400,000 y 700,000 células/ml en la ubre sana, al final de lactancia se observan niveles mayores en el conteo celular somático (Clavijo *et al.*, 2002). La etapa de producción, composición de la leche y ciertas razas también suelen afectar los conteos celulares de la leche (Fekadu *et al.*, 2005; Paape *et al.*, 2007). Conteos celulares mayores de 1×10^6 /ml de leche pueden indicar una infección de la glándula mamaria; el monitoreo del conteo celular en el hato lechero caprino es útil en la prevención de la mastitis (Clements *et al.*, 2003; Suarez *et al.*, 2002). En un estudio en Venezuela se determinó que la prevalencia de mastitis subclínica fue en mayor proporción en sistemas de ordeño manual y menor en hatos con ordeño mecánico (William y Sánchez 1998). En Turquía los SCN y *S. aureus* identificados con mayor frecuencia en la leche de las ovejas y cabras con mastitis subclínica (Ünal *et al.*, 2012). La asociación de *S. aureus* con la mastitis subclínica afecta la producción y composición de la leche, al provocar altos conteos celulares somáticos relacionados con la inflamación crónica de la ubre (Bergonier *et al.*, 2003; Leitner *et al.*, 2004). La atención de los casos de mastitis subclínica y clínica en animales lecheros puede requerir del uso de antibióticos en el tratamiento de las infecciones glandulares (Wolter *et al.*, 2004), en las cabras estos pueden afectar la composición de leche y el retiro de la leche por la presencia de residuos de antibióticos por

mayores periodos después del último tratamiento. La presencia de *S. aureus* en las unidades de producción de los pequeños rumiantes, puede implicar diferencias en la sensibilidad *in vitro* a los antibióticos empleados para el tratamiento de las infecciones (Fernández *et al.*, 2000). En los rebaños caprinos de la región de Matehuala se observó una amplia distribución de la mastitis subclínica asociada a una alta prevalencia de *S. aureus* y SCN y en menor frecuencia a otros patógenos contagiosos y ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Bazán, R., Cervantes, E., Salas, G y Segura-Correa, J. C. 2009. Prevalencia de mastitis subclínica en cabras lecheras en Michoacán, México. Revista Científica FCV-LUZ / Vol. XIX, N° 4, 334– 338.
- Bergonier, D., de Cremoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. Veterinary Research. 34:689–716.
- Clavijo, A. M., Meléndez, B., Clavijo, M. L., Godoy, A. y Santander, J. (2002). Efecto del sistema de explotación sobre la aparición de mastitis caprina en dos fincas del Estado Falcón, sus agentes etiológicos y la resistencia antimicrobianos. Zootecnia Tropical. 20(3): 211-216.
- Clements, A. C., Taylor, D. J and Fitzpatrick, J. L. 2003. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. Journal Dairy Research. 70(2):139-148.
- Fernández, R. E., Las Heras del Río, A., López, P. I., Porrero, C. M. C., Domínguez, R. L., Fernández-Garayzábal, F. J. F. Moreno, R. M. A. 2000. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis ovinas. Patología Animal, XXV: 381-384.
- Fekadu B, K Soryal, S Zeng, D Hekken, B Bah, M Villaquiran. 2005. Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi hard cheeses. Small Ruminant Research 59, 55-63.
- Leitner G, U Merin, N Silanikove. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. Journal Dairy Science 87, 1719-1726.
- Paape M, G Wiggans, D Bannerman, D Thomas, A Sanders, A Contreras, P Moroni, R Miller. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. Small Ruminant Reserach. 68, 114-125.
- Suarez, V. H.; Buseti, M. R.; Miranda, A. O.; Calvino, L. F.; Bedotti, D. O. and Canavesio, V. R. 2002: Effect of infectious status and parity on somatic cell count and California mastitis test in Pampinta dairy ewes. Journal Veterinary Medical. 49(5):230-234.
- Ünal, N.; Askar, S.; Macun, H. C.; Sakarya, F.; Altun, B. And Yildirim, M. 2012: Panton-valentine leukocidin and some exotoxins of *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility profiles of staphylococci isolated from milks of small ruminants. Tropical Animal Health Production. 44(3):573-579.
- William, J. Z. y Sánchez, J. 1998. Estudio comparativo de los sistemas de ordeño manual y mecánico en el desarrollo de mastitis caprina. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 4(1):62-74.
- Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., Zschock, M. 2004. Mastitis bovina, prevención, diagnóstico y tratamiento. Universidad de Guadalajara. Editorial Universitaria, Guadalajara, Jalisco. PP. 132-138.

SUBCLINICAL MASTITIS PREVALENCE IN GOATS HERDS IN FAMILY PRODUCTION, MATEHUALA, SAN LUIS POTOSI, MEXICO

SUMMARY

We obtained 554 random samples of goat milk southern region of Matehuala, San Luis Potosi, Mexico; California mastitis test and bacterial isolation was performed. The results were evaluated by estimating proportions test ($p < 0.05$). Instant prevalence of subclinical and clinical mastitis was 14.65% and 2.37% respectively. Media were negative glandular 43.09%. Frequent test reactions were traces California and one 14.42% and 15.35% respectively. The overall positivity rate of microbial isolation was 34.19%. The overall positivity rate of isolation in herds was 60.6%. The identified agents associated with subclinical mastitis were: *Staphylococcus aureus* (29.73%) and coagulase negative *Staphylococcus* (27.93%). Coliform bacteria in less proportion (1.6%), *Micrococcus* spp. (1.35%), *Bacillus* spp. (1.0%), *Streptococcus* spp. and 0.4% yeast. The most common agents isolated in association with the presence of subclinical mastitis test determined by California in goats herds in the region of Matehuala were *S. aureus* and coagulase-negative, *Staphylococcus E. coli*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis* and yeast.

Key words: Mastitis, goat, milk, pathogens

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE 17 ANTIMICROBIANOS EN AISLAMIENTOS CAPRINOS DE *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*

PATERNA, A.; TATAY-DUALDE, J.; PRATS-VAN DER HAM, M.;
GÓMEZ MARTÍN, A.; AMORES, J.; CORRALES, J.C.; CONTRERAS, A.;
DE LA FE, C. y SÁNCHEZ, A.

Grupo de Investigación Sanidad de Rumiantes. Departamento de
Sanidad Animal. Campus Regional de Excelencia Internacional
'Campus Mare Nostrum', Facultad de Veterinaria. Universidad de
Murcia. 30100 Murcia (España).
sanidadrumiantes@um.es

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 17 antimicrobianos sobre 37 aislamientos caprinos de *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* procedentes de leche o conducto auditivo externo, y dos cepas de referencia. Globalmente, no se observaron diferencias en función del origen del aislamiento. Los antimicrobianos más eficaces ($CMI_{90} < 1 \mu\text{g/ml}$) fueron las fluoroquinolonas excepto la norfloxacin en aislamientos de leche, la doxiciclina, clindamicina y tilosina. La eritromicina, sin embargo, no mostró ($CMI_{90} > 12,8 \mu\text{g/ml}$) tal eficacia, lo cual sugiere la presencia de resistencia adquirida a este antimicrobiano. La lincomicina mostró mayor eficacia sobre cepas de oído ($CMI_{90} = 0,8 \mu\text{g/ml}$) que de leche ($CMI_{90} = 3,2 \mu\text{g/ml}$). Todos los aminoglucósidos mostraron valores de $CMI_{90} > 32 \mu\text{g/ml}$ para ambos tipos de aislamiento, lo que sugiere su ineficacia como tratamiento de la infección.

Palabras clave: antimicrobianos, agalaxia contagiosa, cabra, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*.

INTRODUCCIÓN

Aunque *Mycoplasma agalactiae* se considera el “clásico” agente causal de la agalaxia contagiosa (AC), *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) produce los mismo síntomas característicos de la AC y de hecho, su importancia puede estar subestimada, ya que en determinadas zonas se ha hallado una mayor implicación de esta especie respecto a *M. agalactiae* en los brotes de AC. De forma similar a *M. agalactiae*, la enfermedad puede manifestarse como un brote explosivo, o bien tender a la cronificación. Esto dificulta el control de la enfermedad, que se basa en el manejo de individuos enfermos, el control del movimiento de animales, y la terapia antimicrobiana. Los antimicrobianos tradicionalmente usados frente a micoplasmas son las quinolonas, macrólidos y tetraciclinas.

Los escasos estudios de sensibilidad a antimicrobianos de Mmc incluyen un número limitado tanto de antimicrobianos como de aislamientos. Por ello, en este trabajo se estudia la sensibilidad *in vitro* de 37 aislamientos caprinos de Mmc obtenidos de muestras de leche o hisopo auricular procedentes de rebaños de distintas zonas de España, a 17 antimicrobianos pertenecientes a las familias de los aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, macrólidos y lincosamidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio, se emplearon 19 aislamientos de Mmc de leche de tanque o mamitis, y 16 aislamientos de conducto auditivo externo. Las explotaciones pertenecen a la Región de Murcia, Andalucía y Canarias. Se incluyeron las cepas de referencia PG3 e Y-goat. Los aislamientos cultivados y clonados fueron identificados mediante técnicas moleculares.

La CMI, CMI₅₀ y CMI₉₀ fueron determinadas siguiendo las recomendaciones de Hannan (2000). Los antimicrobianos y rangos de concentración empleados fueron: estreptomycin, kanamicina, gentamicina, neomicina, espectinomicina (8-128 µg/ml); ciprofloxacina, enrofloxacin, marbofloxacina, danofloxacina, moxifloxacina, doxiciclina, tilosina y clindamicina (0.006-12.8 µg/ml); eritromicina, espiramicina, norfloxacina y lincomicina (0.1-12.8 µg/ml). En placas de 96 pocillos se añadió el inóculo de la cepa en estudio hasta una concentración final de 10³-10⁵ UFC/ml en medio de cultivo PH adicionado de rojo fenol como indicador, y la concentración adecuada de antimicrobiano. Se incluyó un control positivo sin antimicrobiano, y un control de esterilidad sin inóculo. Las placas selladas se incubaron a 37°C en atmósfera húmeda con un 5 % de CO₂ hasta observar el viraje del indicador en el control positivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rangos de CMI y valores CMI₅₀ y CMI₉₀ para los aislamientos y antimicrobianos estudiados se presentan en la tabla 1.

Salvo casos puntuales, no hubo diferencias en la sensibilidad entre aislamientos de oído o de leche. Los antimicrobianos que mostraron una menor CMI₉₀ (<1 µg/ml) fueron la ciprofloxacina, enrofloxacina, marbofloxacina, danofloxacina, moxifloxacina, doxiciclina, tilosina, y clindamicina, lo que los sitúa en lugar preferente a la hora de seleccionar un tratamiento para la AC causada por Mmc, pero que además son eficaces *in vitro* contra otros agentes causantes de la misma (De Garnica *et al.*, 2013; Paterna *et al.*, 2013)

Tabla 1. CMI50, CMI90 y rango de CMI (µg/ml) para los antimicrobianos estudiados en función del origen del aislamiento.

Antimicrobiano	Aislamientos procedentes de leche (n=19)			Aislamientos procedentes de conducto auditivo externo (n=16)			PG3	Y-Goat
	Intervalo CMI	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Intervalo CMI	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI	CMI
Aminoglucósidos								
Estreptomicina	16-128	32	128	8-64	16	64	64	16
Kanamicina	16-64	16	64	8-64	32	64	64	32
Gentamicina	16-64	32	64	8-64	32	64	32	32
Neomicina	128->128	>128	>128	128->128	>128	>128	>128	>128
Espectinomicina	16-32	16	32		16	32	32	16
Fluoroquinolonas								
Ciprofloxacina	0.05-0.2	0.1	0.2	0.05-0.1	0.05	0.1	0.1	0.05
Enrofloxacina	0.025-0.2	0.05	0.2	0.05-0.2	0.05	0.1	0.05	0.05
Marbofloxacina	0.1-0.4	0.1	0.2	0.1-0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Danofloxacina	0.025-0.2	0.05	0.2	0.05-0.2	0.05	0.1	0.05	0.1
Moxifloxacina	0.01-0.1	0.025	0.1	0.01-0.05	0.025	0.025	0.025	0.025
Norfloxacina	0.2-1.6	0.8	1.6	0.2-0.8	0.4	0.8	0.8	
Tetraciclinas								
Doxiciclina	0.025-0.1	0.025	0.1	0.025-0.05	0.025	0.05	0,025	0.025
Macrólidos								
Tilosina	0.025-0.2	0.05	0.1	0.025-0.2	0.05	0.1	0.1	0.1
Eritromicina	1.6->12.8	>12.8	>12.8	1.6->12.8	12.8	>12.8	1.6	6.4
Espiramicina	0.2->12.8	3.2	6.4	0.2-6.4	0.4	6.4	0.2	0.2
Lincosamidas								
Clindamicina	0.05-6.4	0.2	0.4	0.05-0.4	0.2	0.2	0.2	0.2
Lincomicina	0.2->12.8	0.8	3.2	0.2-3.2	0.8	0.8	0.4	0.4

Para la enrofloxacina se consideran sensibles los aislamientos con CMI ≤ 0.5 µg/ml (Hannan *et al.*, 1997). Según esto, los aislamientos

estudiados fueron sensibles a las fluoroquinolonas excepto 2 y 11 cepas de oído y leche, respectivamente, con resistencia intermedia frente a norfloxacin. Estos resultados son además similares a los obtenidos por Antunes *et al.* (2007). La única fluoroquinolona de 4ª generación incluida fue la que mostró los menores valores CMI₉₀ (0.025 µg/ml) del estudio. Las diferencias en la susceptibilidad frente a distintos antimicrobianos pueden ser fruto de presión selectiva, que generaría la difusión de los clones más resistentes, agravado además por su extenso uso en las distintas especies de abasto. La resistencia a fluoroquinolonas se relaciona con la presencia de sustituciones aminoacídicas en determinadas regiones de los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* (Waites *et al.*, 2014).

A pesar de que algunos aminoglucósidos demuestran cierta actividad *in vitro*, normalmente no se considera su uso como tratamiento antimicoplasma en medicina humana (Waites *et al.*, 2014). Como ya vieran Antunes *et al.* (2007), se observaron valores altos de CMI₉₀, por encima de 128 µg/ml en el caso de la neomicina. Considerando los puntos de corte para la estreptomicina (sensibles ≤ 4 µg/ml) (ter Laak *et al.*, 1991), ninguno de los aislamientos sería sensible a los antimicrobianos de este grupo.

Los macrólidos incluidos ofrecieron resultados dispares entre ellos. La tilosina mostró los valores de CMI más bajos, en concordancia por lo observado por Antunes *et al.* (2007), y calificaría como sensibles a los aislamientos (Hannan *et al.*, 1997). Por el contrario, se observó una falta de eficacia de la eritromicina, con CMI > 12.8 µg/ml en todos los aislamientos excepto dos de leche y varios de oído. Esto, sumado a los amplios rangos de CMI que presenta, sugiere que los aislamientos estudiados son resistentes a este antimicrobiano. Los resultados difieren de lo observado por Antunes *et al.*, (2007), lo que podría explicarse por el distinto origen geográfico y temporal de los aislamientos, como se ha observado en el caso de *Mycoplasma bovis* (Gerchmann *et al.*, 2009), y de cualquier modo, se vinculan a la frecuencia en el uso de este antimicrobiano durante las últimas décadas. La resistencia a la eritromicina suele relacionarse con mutaciones en la posición 2058 del dominio V del ARNr 23S (Waites *et al.*, 2014). La espiramicina mostró resultados intermedios entre los otros macrólidos, con mayores rangos de los observados por Antunes *et al.* (2007). Las diferencias observadas entre los macrólidos estudiados pueden responder al número de carbonos en su molécula, como es el caso de *Mycoplasma hominis*, resistente por naturaleza a macrólidos de 14 y 15 carbonos, pero susceptible a los de 16 (Pereyre *et al.*, 2002).

La norfloxacin y lincomicina mostraron valores de CMI₉₀ superiores a 1 µg/ml en aislamientos de leche, pero inferiores en conducto auditivo. Las diferentes propiedades farmacocinéticas del tejido podrían suponer la exposición al patógeno a concentraciones inferiores a la CMI, lo que además fomentaría la aparición de resistencias.

CONCLUSIONES

Los antibióticos de mayor efectividad *in vitro* frente a Mmc fueron la ciprofloxacina, enrofloxacin, danofloxacin, moxifloxacina, doxiciclina, tilosina y clindamicina. La eritromicina mostró valores elevados de CMI, lo que sugiere la aparición de resistencia a este antimicrobiano en aislamientos de Mmc y por tanto limitaría su uso como tratamiento de la AC. Todos los aminoglucósidos estudiados mostraron valores altos de CMI, por lo que se descarta como grupo de elección para la terapia de la infección.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado por el Proyecto AGL2013-44771-R del Ministerio de Economía del Gobierno de España.

BIBLIOGRAFÍA

- Antunes, N.T., Tavío, M.M., Assunção, P., Rosales, R.S., Aquili, V., de la Fe, C., Poveda, J.B. 2007. *In vitro* susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* large colony type to 15 antimicrobials. *Vet. Microbiol.* 119:72-5.
- de Garnica, M.L., Rosales, R.S., Gonzalo, C., Santos, J.A., Nicholas, R.A. 2013. Isolation, molecular characterization and antimicrobial susceptibilities of isolates of *Mycoplasma agalactiae* from bulk tank milk in an endemic area of Spain. *J. Appl. Microbiol.* 114:1575-81.
- Gerchman, I., Levisohn, S., Mikula, I., Lysnyansky, I. 2009. *In vitro* antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma bovis* isolated in Israel from local and imported cattle. *Vet. Microbiol.* 137: 268-75.
- Hannan P.C.T., Windsor G.D., De Jong A., Schmeer N., Stegemann M. 1997. Comparative susceptibilities of various animal-pathogenic mycoplasmas to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 2037-40.
- Hannan, P.C. 2000. Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. International Research Programme on Comparative Mycoplasmaology. *Vet. Res.* 31:3 73-95.
- Paterna, A., Sánchez, A., Gómez-Martín, A., Corrales, J.C., De La Fe, C., Contreras, A., Amores, J. 2013. Short communication: *In vitro* antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma agalactiae* strains isolated from dairy goats. *J. Dairy Sci.* 96: 7073-6.

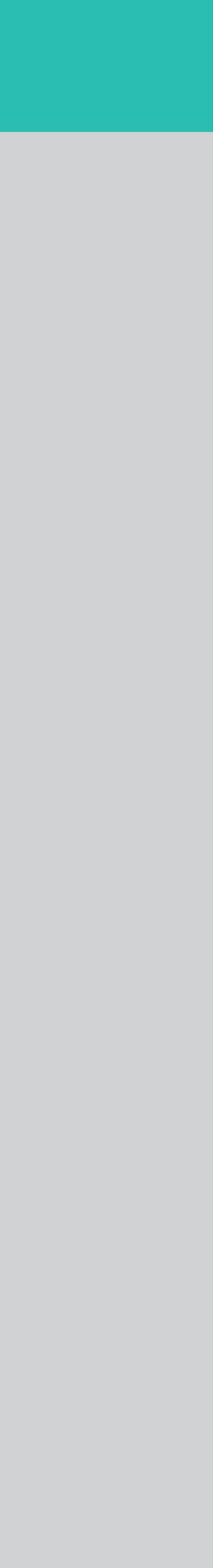
- Pereyre, S., Gonzalez, P., De Barbeyrac, B., Darnige, A., Renaudin, H., Charron, A., Raheison, S., Bébéar, C., Bébéar, C.M. 2002. Mutations in 23S rRNA account for intrinsic resistance to macrolides in *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma fermentans* and for acquired resistance to macrolides in *M. hominis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 3142-50.
- Ter Laak, E.A., Pijpers, A., Noordergraaf, J.H., Schoevers, E.C., Verheijden, J.H.M. 1991. Comparison of methods for *in vitro* testing of susceptibility of porcine mycoplasma species to antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 228-33.
- Waites, K.B., Lysnyansky, I., Bébéar, C.M. 2014. Emerging antimicrobial resistance in mycoplasmas of humans and animals. En: *Mollicutes*. Browning, G.F. y Citti, C. (eds.), 2014. Caister academic press, Norfolk (UK).

MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF 17 ANTIMICROBIALS IN CAPRINE ISOLATES OF *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*

SUMMARY

In this study it was determined the minimum inhibitory concentration (MIC) of 17 antimicrobials on 37 goat isolates of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* from milk (n=19) or external ear canal (n=16), and two reference strains. Overall, no differences in sensitivity depending on the origin of the isolate was observed. The most efficacy antimicrobials were ($MIC_{90} < 1 \mu\text{g/ml}$), fluoroquinolones except norfloxacin for milk isolates, doxycycline, tylosine and clindamicine. Other macrolides did not show such efficacy, standing out erythromycin ($MIC_{90} > 12,8 \mu\text{g/ml}$), which suggests the presence of an acquired resistance to this antimicrobial. Lincomicine showed greater efficacy over ear strains ($MIC_{90} = 0,8 \mu\text{g/ml}$) than over milk ones ($MIC_{90} = 3,2 \mu\text{g/ml}$). All aminoglycosides showed $MIC_{90} > 32 \mu\text{g/ml}$ for both type of isolates, which suggests an inefficacy as a treatment for the infection.

Key words: antimicrobials, contagious agalactia, goat, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*.



PRIMERAS EVIDENCIAS DE PLASTICIDAD GENÓMICA EN CEPAS DE *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* AISLADAS EN ESPAÑA

GÓMEZ-MARTÍN, A.; PATERNA, A.; PRATS-VAN DER HAM, M.; TATAY-DUALDE, J.; AMORES, J.; CORRALES, J.C.; SÁNCHEZ, A.; CONTRERAS, A. y DE LA FE, C.

Grupo de Investigación Sanidad de Rumiantes. Departamento de Sanidad Animal. Campus Regional de Excelencia Internacional 'Campus Mare Nostrum', Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 30100 Murcia (España).
sanidadrumiantes@um.es

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo realizar la caracterización molecular de cepas aisladas en rebaños españoles de *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) y *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc), dos de los cuatro agentes etiológicos de la agalaxia contagiosa caprina. El estudio evolutivo de los aislamientos del grupo mycoides fue realizado mediante secuenciación del gen altamente conservado *fusA*. Mientras que se observaron secuencias idénticas en las cepas de Mcc, cinco tipos de secuencias de Mmc estaban presentes entre los colectivos estudiados, observándose también diferentes cepas dentro de los mismos. Esta plasticidad genética de Mmc podría tener consecuencias en el control de la infección que será necesario evaluar y considerar en un futuro.

Palabras clave: agalaxia contagiosa, grupo mycoides.

INTRODUCCIÓN

La agalaxia contagiosa (AC) caprina es una de las enfermedades con mayores repercusiones socioeconómicas en el sector de los pequeños rumiantes en la cuenca mediterránea. Aunque *Mycoplasma agalactiae*

(Ma) es el principal agente etiológico de la enfermedad, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc), *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc) y *Mycoplasma putrefaciens* también pueden estar implicados en el ganado caprino (Corrales *et al.*, 2007). En los últimos años, el incremento en los conjuntos de datos de secuencias de micoplasmas humanos y animales está contribuyendo a la mejora en el diagnóstico, identificación y sistemas de tipificación (Citti and Blanchard 2013). No obstante, apenas hay estudios sobre los perfiles genómicos de Mmc y Mcc. En el presente trabajo se realizó una tipificación de cepas de estas especies de micoplasmas aisladas en diversas regiones de España mediante el estudio de las secuencias del gen altamente conservado *fusA*.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio se incluyeron 12 cepas de Mmc y 4 de Mcc aisladas en 5 explotaciones caprinas españolas crónicamente infectadas (Tabla 1). Para su aislamiento se realizó un cultivo específico de *Mycoplasma* spp. en medio PH y una identificación bioquímica. (Gómez-Martín *et al.*, 2012). Tras aislar las cepas, se llevó a cabo una extracción de ADN basada en una matriz de sílice (Tola *et al.*, 1997). Posteriormente se llevó a cabo una PCR específica del grupo mycoides (Wuobit *et al.*, 2007) y en las muestras positivas se llevó a cabo una PCR fundamentada en el gen altamente conservado *fusA* (Manso-Silván *et al.*, 2007). El amplicón de las muestras positivas fue purificado mediante un kit comercial (QIAquick, QUIAGEN) y posteriormente secuenciado en el Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Murcia. Finalmente, se llevó a cabo un alineamiento de las secuencias obtenidas para su estudio evolutivo y la construcción de un árbol filogenético mediante el programa informático MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

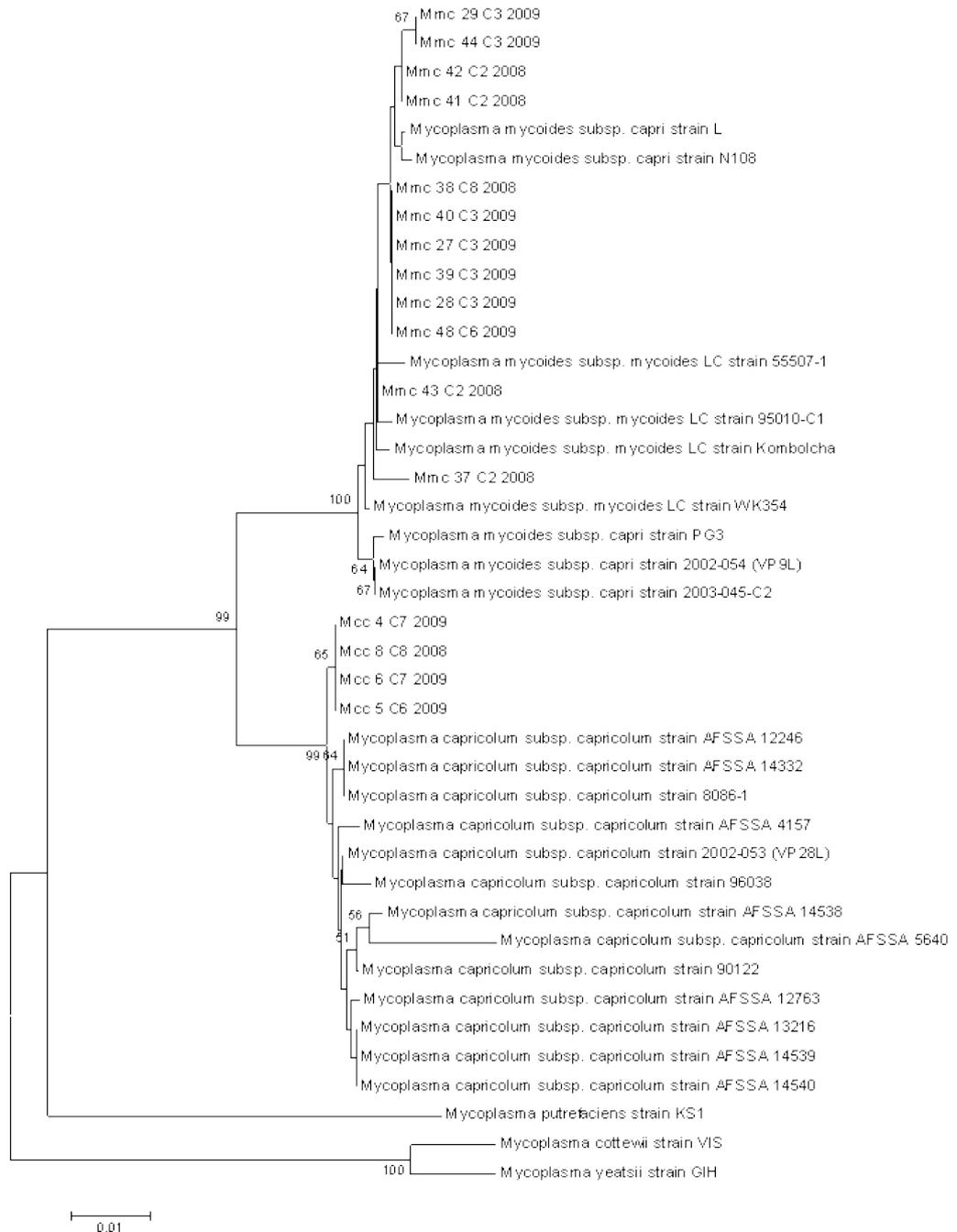
El estudio evolutivo de las 16 cepas del grupo mycoides aisladas en el presente trabajo se realizó empleando un fragmento de 561 pb. Las diferencias y similitudes entre las secuencias se pueden observar en la tabla 1. Entre las secuencias de las 12 cepas de Mmc estudiadas, se detectaron 5 sitios variables. Cuatro de los mismos coincidían con sitios variables también observados en secuencias de cepas de Mmc presentes en GenBank. Por otro lado, las 4 cepas de Mcc presentaron secuencias idénticas. La figura 1 muestra el árbol filogenético resultante de este estudio, donde puede observarse el agrupamiento de estas cepas con otras incluidas en GenBank.

Tabla 1. Estimaciones de la divergencia evolutiva entre secuencias de diferentes cepas de *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) y *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc) aisladas en España.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1: Mmc 37.C2																
2: Mmc 41.C2	0,005															
3: Mmc 42.C2	0,005	0,000														
4: Mmc 43.C2	0,005	0,004	0,004													
5: Mmc 29.C3	0,007	0,002	0,002	0,005												
6: Mmc 40.C3	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004											
7: Mmc 44.C3	0,007	0,002	0,002	0,005	0,000	0,004										
8: Mmc 27.C3	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004	0,000	0,004									
9: Mmc 39.C3	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004	0,000	0,004	0,000								
10: Mmc 28.C3	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004	0,000	0,004	0,000	0,000							
11: Mmc 48.C6	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000						
12: Mmc 38.C8	0,007	0,002	0,002	0,002	0,004	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000					
13: Mcc 5.C6	0,034	0,032	0,032	0,030	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032				
14: Mcc 6.C7	0,034	0,032	0,032	0,030	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032	0,000			
15: Mcc 4.C7	0,034	0,032	0,032	0,030	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032	0,000	0,000		
16: Mcc 8.C8	0,034	0,032	0,032	0,030	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032	0,000	0,000	0,000	

C2, C3, C6, C7 y C8 hace referencia a los cinco colectivos donde fueron aisladas las cepas.

Nuestros resultados muestran la presencia de diferentes cepas circulando en los rebaños estudiados (tabla 1). Uno de estos tipos de secuencias fue situado en un grupo independiente al compararlo con cepas de Mmc presentes en GenBank (figura 1). Esta heterogeneidad en Mmc es coherente con lo observado en otros estudios que han empleado electroforesis de campo pulsado (PFGE) en Francia (Tardi *et al.*, 2007) o Italia (Corona *et al.*, 2013), en los que también se ha observado una baja estabilidad genómica. La presencia de un mismo clon en diferentes rebaños ha sido asociado al movimiento de animales (Corona *et al.*, 2013). Por el contrario, se observaron idénticas secuencias en las cepas de Mcc aisladas en nuestro trabajo que, no obstante, no estaban agrupadas con cepas de otros países (Figura 1). Aunque son necesarios más estudios que clarifiquen esta hipotética homogeneidad entre cepas de Mcc de diferentes rebaños, debe considerarse que Mcc es una especie menos prevalente en España que Ma o Mmc, lo que podría disminuir las posibilidades de encontrar diferentes clones.



La historia evolutiva se infiere utilizando un método Neighbor-Joining en el que se realizaron 1000 repeticiones mediante la prueba de fiabilidad de Bootstrap. Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método p-distancia.

Figura 1. Relaciones evolutivas entre los taxones.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo suponen las primeras observaciones de plasticidad genómica en cepas de Mmc aisladas en España. Esta peculiaridad genómica podría complicar las estrategias de control de la AC en nuestro entorno y habrá de ser tomada en cuenta a la hora de

desarrollar mejores estrategias de lucha frente a la infección, tales como la sensibilidad a antibióticos y desinfectantes, o la vacunación.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por el Proyecto AGL2013-44771-R del Ministerio de Economía del Gobierno de España.

BIBLIOGRAFÍA

- Citti C, Blanchard A. 2013. Mycoplasmas and their host: emerging and re-emerging minimal pathogens. *Trends Microbiol.* 21:196-203.
- Corona, L., Amores, J., Onni, T., De la Fe, C., Tola, S. 2013. Characterization *Mycoplasma mycoides* of subsp. *capri* isolates by SDS-PAGE, immunoblotting and PFGE. *Small Ruminant Research* 115, 140-4.
- Corrales, J.C., Esnal, A., De la Fe, C., Sánchez, A., Assunção, P., Poveda, J.B., Contreras A. 2007. Contagious agalactia in small ruminants. *Small Rum. Res.* 68:154-66.
- Gómez-Martín, A., De la Fe, C., Amores, J., Sánchez, A., Contreras, A., Paterna, A., Buendía, A.J., Corrales, J.C., 2012. Anatomic location of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma agalactiae* in naturally infected goat male auricular carriers. *Veterinary Microbiology* 157, 355-62.
- Manso-Silván, L., Perrier, X., Thiaucourt, F. 2007. Phylogeny of the *Mycoplasma mycoides* cluster based on analysis of five conserved protein-coding sequences and possible implications for the taxonomy of the group. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2247-58.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-29.
- Tardy, F., Mercier, P., Solsona, M., Saras, E., Poumarat, F. 2007. *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* biotype large colony isolates from healthy and diseased goats: Prevalence and typing. *Veterinary Microbiology* 121, 268-77
- Tola, S., Angioi, A., Rocchigiani, A.M., Idini, G., Manunta, D., Galleri, G., Leori, G. 1997. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol* 54, 17-22.
- Woubit, S., Manso-Silván, L., Lorenzon, S., Gaurivaud, P, Poumarat, F., Pellet, M-P., Singh, V.P., Thiaucourt, F. 2007. A PCR for the detection of mycoplasmas belonging to the *Mycoplasma mycoides* cluster: Application to the diagnosis of contagious agalactia. *Mol. Cell. Prob.* 21 (5-6), 391-399.

FIRST EVIDENCES OF GENOMIC PLASTICITY IN STRAINS OF *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* ISOLATED IN SPAIN

SUMMARY

The aim of this work was to perform the molecular typing of strains isolated from spanish herds of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc), two of the four etiological agents of caprine contagious agalactia. Evolutive study of the isolates of cluster mycoides was performed by sequencing the house-keeping gene *fusA*. Whether identical sequences in Mcc strains were observed, five types of sequences were present among the collectives studied, and also differences within them were detected. This genetic plasticity of Mmc could have consequences on the control of the infection, which should be necessary to evaluate and to consider in the future.

Key words: contagious agalactia, cluster mycoides.

PRESENCIA DE *Mycoplasma agalactiae* EN LA VAGINA Y EL PREPUCIO DE CABRAS Y SEMENTALES CAPRINOS PORTADORES ASINTOMÁTICOS

GÓMEZ-MARTÍN, A.; PATERNA, A.; PRATS-VAN DER HAM, M.; TATAY-DUALDE, J.; AMORES, J.; CORRALES, J.C.; SÁNCHEZ, A.; CONTRERAS, A. y DE LA FE, C.

Grupo de Investigación Sanidad de Rumiantes.

Departamento de Sanidad Animal. Campus Regional de Excelencia Internacional 'Campus Mare Nostrum', Facultad de Veterinaria.

Universidad de Murcia. 30100 Murcia (España).

sanidadrumiantes@um.es

RESUMEN

Dado que se ha confirmado la excreción de *Mycoplasma agalactiae* (Ma), principal agente etiológico de la agalaxia contagiosa (AC), a través del semen de sementales caprinos portadores asintomáticos, se procedió a verificar su capacidad de colonización vaginal para evaluar un posible riesgo de transmisión venérea. Para ello, se tomaron muestras vaginales de 88 cabras presentes en 8 centros de extracción de semen y en dos rebaños crónicamente infectados. En uno de estos rebaños se tomaron también hisopos de prepucio de los sementales de la explotación (n=20). En todas las muestras se realizó un diagnóstico molecular mediante PCR específica de Ma. Tres muestras de vagina pertenecientes a una cabra excitadora y 2 cabras de uno de los rebaños muestreados resultaron positivas a la presencia de Ma. En este rebaño también se confirmó la presencia de Ma en el prepucio de 2 sementales. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de incluir la muestra vaginal de las cabras excitadoras en los programas de vigilancia de los centros de extracción de semen. Además, se ha puesto de manifiesto el importante papel que los sementales portadores asintomáticos de Ma podrían jugar en las explotaciones como reservorio y fuente de difusión de la AC.

Palabras clave: *Mycoplasma agalactiae*, portadores, vagina, prepucio.

INTRODUCCIÓN

Mycoplasma agalactiae (Ma) y *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* son los principales agentes etiológicos de la agalaxia contagiosa (AC) caprina. En esta especie animal se ha demostrado la excreción de estas bacterias por el eyaculado de forma natural, en sementales portadores asintomáticos (De la Fe *et al.* 2009; Gómez-Martín *et al.* 2012). En el caso de Ma, estudios de contaminación experimental han corroborado, además, la capacidad de supervivencia de Ma en el eyaculado a 37°C durante al menos dos horas y media, así como que esta secreción supone un medio idóneo para el crecimiento de esta especie de micoplasma (Gómez-Martín *et al.* 2015). A pesar de ello, no se conoce si Ma es capaz de colonizar el aparato reproductor de cabras infectadas de forma natural, por lo que su tropismo urogenital sigue siendo una incógnita. El presente trabajo estudió la presencia de Ma en la vagina y el prepucio de cabras y sementales caprinos sin clínica de la enfermedad, en aras de evidenciar un riesgo de transmisión a través de la monta natural.

MATERIAL Y MÉTODOS

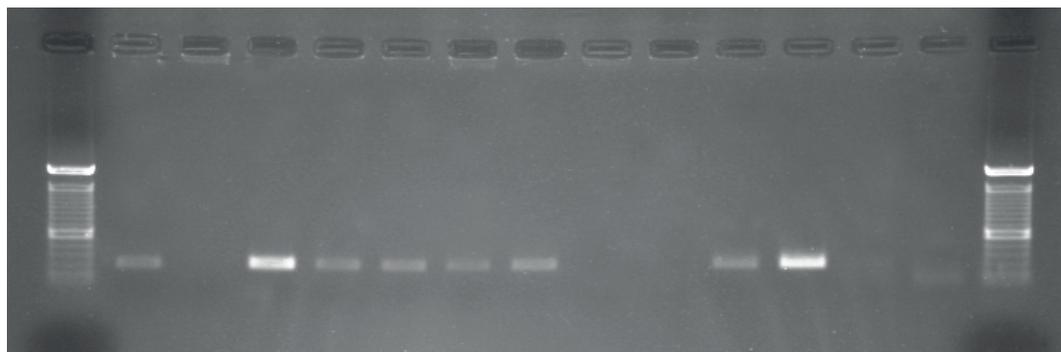
Para el presente trabajo se tomaron hisopos vaginales de 88 cabras procedentes de diez colectivos. Diecisiete de ellas eran cabras estimuladoras empleadas para la extracción de semen en ocho centros de inseminación o investigación. El resto (n=71; 15+56), procedían de dos rebaños crónicamente infectados con animales excretando Ma por vía galactógena en el momento del estudio. Además, en uno de estos dos rebaños se tomaron hisopos del prepucio de la totalidad de los sementales (n=20) de la explotación, los cuales no se encontraban en contacto con las cabras en el momento del estudio. Todos los hisopos fueron preservados en un medio de transporte a una temperatura aproximada de 4°C. Fueron sembrados en un medio PH específico de micoplasmas con ampicilina e incubados durante 24 horas. Posteriormente, se tomó una alícuota de 200 µl para la extracción de ADN, basada en el uso de una matriz de sílice y tiocianato de guanidina, desarrollada por Tola *et al.*, (1997) y que previamente ha sido empleada para la identificación de Ma a partir de muestras de hisopo (Amores *et al.*, 2010). Finalmente, se realizó una PCR convencional específica de Ma en un termociclador “i-cicler” (Bio Rad), basada en el gen altamente conservado *polC* (Marenda *et al.*, 2005), empleando como control positivo la cepa de referencia de Ma PG2 (NCTC 10123). El amplicón resultante fue sometido a una electroforesis en gel de agarosa al 1%. Finalmente, los productos se visualizaron por tinción con bromuro de etidio en un equipo de análisis de imagen (Syngen, Cambridge, UK). En aquellos animales en los que alguna muestra (vagina o prepucio) resultó positiva a la PCR específica

de Ma, se procedió a tomar muestras de ambos conductos auditivos externos y conjuntivas, así como una muestra de leche de ambas glándulas mamarias en el caso de las hembras, para ser procesadas de igual forma. En el caso de las muestras de leche, la extracción de ADN se llevó a cabo a partir de 200 µl de leche.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra el tamaño de las bandas de ADN amplificado en las PCR específicas de Ma realizadas. Tres muestras de vagina (3.5%) resultaron positivas a la PCR de Ma. Una de estas muestras procedía de una de las cabras excitadoras presentes en un centro de inseminación y los resultados posteriores confirmaron la presencia de esta especie bacteriana en la leche de ese mismo individuo. Las otras dos cabras positivas en vagina pertenecían a uno de los rebaños crónicamente infectados que fueron incluidos en el estudio, y resultaron negativas al resto de localizaciones anatómicas muestreadas (oído, conjuntiva y glándula mamaria). Ninguna de las cabras muestreadas estaba sujeta a monta natural en el momento del muestreo, lo que descarta que la presencia de Ma en vagina pudiera derivarse de un reciente contacto con semen infectado. Estos resultados suponen la primera identificación de Ma en la vagina de cabras sin síntomas de AC y las primeras evidencias de colonización del aparato reproductivo en individuos de esta especie animal infectados de forma natural. Este hallazgo no resulta casual ya que, en el caso del ganado ovino, se ha demostrado de forma experimental la capacidad de Ma para colonizar la vagina (Buonavoglia *et al.*, 1999). Aunque en nuestro trabajo no se detectó la presencia de Mmc en ninguna muestra vaginal, el hecho de que se haya descrito la presencia de esta especie en el 6 % de las vaginas de ovejas (Kidanemariam *et al.*, 2005), sugiere que no ha de descartarse su posible tropismo reproductivo en cabras.

Por otro lado, se detectó la presencia de Ma en el prepucio de dos sementales caprinos del mismo rebaño en el que se identificara su presencia en vagina. En uno de estos dos sementales, Ma también fue aislado en el conducto auditivo externo. Dicho hallazgo supone también la primera identificación de Ma en el prepucio de sementales caprinos, lo que estaría relacionado con la excreción intermitente a través del semen que puede ser observada en portadores asintomáticos (De la Fe *et al.*, 2009). A pesar de ello, dado que Ma puede sobrevivir y crecer de forma exponencial en el eyaculado a 37°C (Gómez-Martín *et al.*, 2015), su presencia en el prepucio de sementales asintomáticos podría contribuir a la difusión de la infección dentro del rebaño a través de la monta natural.



La imagen muestra la amplificación de fragmentos de 265 pb en la PCR fundamentada en el gen altamente conservado *polC*.

Figura 1. Muestras positivas en una PCR convencional de *Mycoplasma agalactiae*.

CONCLUSIONES

La toma de muestras vaginales en cabras excitadoras debería formar parte de los programas de vigilancia de AC en los centros de extracción de semen. La presencia de sementales portadores asintomáticos de Ma en un rebaño caprino podría suponer un reservorio de la AC dentro de los rebaños, contribuyendo a la difusión de la infección a través de la monta natural.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por el Proyecto AGL2013-44771-R del Ministerio de Economía del Gobierno de España.

REFERENCIAS

- Amores, J., Corrales, J.C., Gómez-Martín, Á., Sánchez, A., Contreras, A., de La Fe, C. 2010. Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in ear swabs taken from goats. *Vet. Microbiol.* 140:105-108.
- Buonavoglia, D., Fasanella, A., Greco, G., Pratelli, A. 1999. A study of an experimental infection of sheep with *Mycoplasma agalactiae*. *New Microbiol.* 22, 27-30.
- de La Fe, C., Amores, J., Gómez-Martín, A.G, Sánchez, A, Contreras, A., Corrales, J.C. 2009. *Mycoplasma agalactiae* detected in the semen of goat bucks. *Theriogenology* 72:1278-81.
- Gómez-Martín, A., Corrales, J.C., Amores, J., Sánchez, A., Contreras, A., Paterna, A., de La Fe, C. 2012. Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in semen. *Theriogenology* 77:1252-6
- Gómez-Martín, A., Uc, N., Vieira, L., Gadea, J., Cádenas, J., Sánchez, A., de La Fe, C. 2015. Survival capacity of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in the diluted semen of goat bucks and their effects on sperm quality. *Theriogenology* 83: 911-9.

- Kidanemariam, A., Gouws, J., van Vuuren, M., Gummow, B. 2005. Ulcerative balanitis and vulvitis of Dorper sheep in South Africa: a study on its aetiology and clinical features. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 76:197-203.
- Marenda, M.S., Sagne, E., Poumarat, F., Citti, C. 2005. Suppression sub-tractive hybridization as a basis to assess *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* genomic diversity and species-specific sequences. *Microbiology* 151:475-89.
- Tola, S., Angioi, A., Rocchigiani, A.M., Idini, G., Manunta, D., Galleri, G., Leori, G. 1997. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol* 54, 17-22.

PRESENCE OF *Mycoplasma agalactiae* IN THE VAGINA AND FORESKIN OF ASYMPTOMATIC GOAT AND BUCK CARRIERS

SUMMARY

Given that it has been confirmed the excretion of *Mycoplasma agalactiae* (Ma), the main etiological agent of contagious agalactia (CA), through the semen of asymptomatic carrier bucks, we proceeded to verify its ability to colonize the vagina, in order to evaluate a possible risk of venereal transmission. For this purpose, vaginal swabs were taken from 88 goats in 8 centres of semen extraction and 2 chronically infected herds. In one of this herds also foreskin swabs were taken from the bucks (n=20). In all the samples it was performed a molecular diagnosis by specific PCR of Ma. Three vaginal samples from a teaser goat and two goats from one of the chronically infected herds were positive to the presence of Ma. In this herd it was also confirmed the presence of Ma in the foreskin of two bucks. This results state the necessity of including the vaginal sample of teaser goats in surveillance programs of semen extraction centres. Besides, it has been demonstrated the important role that asymptomatic bucks may play in herds, as a reservoir and source of diffusion of CA.

Key words: *Mycoplasma agalactiae*, carriers, vagina, foreskin.

RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE HECES DE CORDEROS EN EL ESTADO DE MÉXICO

GONZÁLEZ, A.; ENRÍQUEZ, E.; TALAVERA, M.; SORIANO, E.;
MONTES DE OCA, R.; GARCIA, C.; VELÁZQUEZ, V. Y ACOSTA, J.

Centro de investigación y Estudios Avanzados, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la resistencia a antimicrobianos en corderos. Se tomaron 182 muestras de hisopos rectales en ocho Unidades de Producción Pecuaria del estado de México, se realizó la siembra en agar EMB para aislamiento de *Escherichia coli*, a las cepas sospechosas se les realizaron pruebas bioquímicas. La resistencia a los antibióticos se realizó por la técnica de difusión en medio sólido con unidiscos y la evaluación de la resistencia se realizó en base al CLSI, 2012. De las 119 cepas de *E. coli* aisladas el 45.3 % fue resistente tetraciclina, el 18.4% al ácido nalidíxico, el 6.7% a la gentamicina, el 3.3% a la ciprofloxacina y el 1.6% a la amikacina. Se encontraron cinco cepas multirresistentes. No se encontraron cepas resistentes a los antibióticos β lactámicos estudiados cefotaxima y ceftazidima. Los resultados indican la presencia de resistencia a los antibióticos en las cepas aisladas, en primer lugar a las tetraciclinas, además de presentarse algunas cepas multiresistentes. Por lo tanto, existe el riesgo latente del fracaso terapéutico en caso de presentarse brotes diarreicos por *E. coli* si no se realiza aislamiento y pruebas de sensibilidad *in vitro*.

Palabras clave: *Escherichia coli*, resistencia a los antibióticos, corderos

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli es uno de los microorganismos más difundidos en la naturaleza y un integrante principal de la flora intestinal normal, pero consistentemente la bacteria es uno de los agentes etiológicos más importantes de las diarreas neonatales de los mamíferos. Las diferentes investigaciones realizadas señalan que *E. coli* está presente en el 30% al 40% de los focos de diarrea neonatal de los corderos (Scott y Menzies, 2011). La resistencia a los antimicrobianos es un importante problema que va en aumento, tanto en el caso del hombre como de los animales (Scott *et al.*, 2012). El amplio uso, a veces indiscriminado, de estos compuestos da lugar a una selección de bacterias que son hereditariamente resistentes. El objetivo de este trabajo es evaluar la resistencia a los antibióticos β -lactámicos, quinolonas, tetraciclinas y aminoglucósidos en cepas de *E. coli* aisladas de corderos con y sin diarrea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos se llevaron a cabo en diferentes Unidades de Producción Pecuaria (UPP) de diferentes áreas en el Estado de México. Se tomaron 183 hisopos rectales de un total de 156 corderos y 27 madres. Para evitar la desecación de la muestra se utilizaron hisopos con medio Stuart. Las muestras se recogieron bajo estrictas condiciones de antisepsia, tanto el material de colección como el recipiente en el que se transportaron. Se anexó una historia clínica permanente que incluye, número de animales afectados, si el animal del que proviene la muestra fue tratado con antimicrobianos, cuáles y durante cuánto tiempo; así como un diagnóstico presuntivo con base en signos clínicos y epidemiológicos. Una vez recogidas las muestras, y en condiciones de refrigeración, se enviaron dentro de las siguientes 24 horas al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) al área de Bacteriología.

Se procedió a una siembra de las muestras en agar EMB o en agar McConkey y se observó la morfología y color característico de este microorganismo en estos medios. Aquellos aislamientos que resultaron sospechosos por sus características morfológicas en ambos medios se les realizó pruebas bioquímicas confirmatorias: catalasa, oxidasa, TSI, LIA, Citrato de Simmons, MIO, SIM, OF, Rojo de Metilo, Agua Peptonada, Vogues Proskauer y Urea. La sensibilidad antimicrobiana se evaluó mediante una prueba de difusión en medio sólido. Se preparó el inóculo bacteriano de cada aislamiento en tubos de ensayo con caldo Mueller Hinton (MH) con patrón de turbidez de 0.5 en la escala de McFarland lo que equivale aproximadamente de 1 a 2×10^8 unidades formadoras de colonias. Se

introdujo en el tubo de ensayo inoculado un hisopo estéril de algodón el cual se sumergido completamente y se frotó un poco en las paredes del tubo para retirar el exceso de líquido del mismo (CLSI, 2012). Para sembrar las placas de petri con agar MH, se estrió el hisopo con la suspensión de bacteria sobre toda su superficie en forma paralela y compacta, este paso se repitió dos veces más rotando la placa aproximadamente 60 grados cada vez para asegurar una distribución uniforme del inóculo, finalmente se barrió el hisopo sobre el borde de la placa, cada placa sembrada se dejó secar durante 2-3 min. Dentro de 15 min posteriores que las placas de petri fueron sembradas, se colocaron los sensibilizadores con una pinza estéril o con un dispensador asegurándose de que hicieran contacto con la superficie del agar, las placas se invirtieron e incubaron por 18 hrs a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. La lectura se realizó midiendo el diámetro del halo de inhibición en mm con un vernier. Los aislamientos se clasificaron como susceptibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) de acuerdo a los estándares de CLSI. A los aislamientos que resultaran resistentes (R) a los antibióticos β -lactámicos empleados se les realizaría una prueba de discos en combinación con ácido clavulánico para confirmar la detección fenotípica de ESBLs (β -lactamasas de Espectro Extendido).

RESULTADOS

Se recibieron 182 muestras de hisopados rectales de los cuales se aislaron 119 cepas identificadas morfológicamente y bioquímicamente como *E. coli*, provenientes de ocho UPP de ovinos en el Estado de México. Se encontraron cepas de *E. coli* resistentes (R), intermedias (I) o sensibles (S), a los diferentes antibióticos. En la Tabla 1 se muestra el porcentaje y número de cepas resistentes a los diferentes antibióticos.

Tabla 1. Número y porcentaje de cepas de *E. coli* resistentes a los antibióticos empleados.

UPP	1		2		3		4		5		6		7		8	
Anti.	nR	%R														
CTX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CAZ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TE	9	52.9	6	37.5	2	20.0	6	54.5	6	45.2	3	37.5	16	53.1	6	46.2
NA	4	23.5	2	12.5	-	-	-	-	3	23.1	-	-	11	34.4	2	15.4
CIP	-	-	-	-	-	-	-	-	1	7.7	-	-	2	6.2	1	7.7
AM	-	-	-	-	1	10.0	-	-	-	-	-	-	1	3.1	-	-
GE	1	5.9	3	18.8	1	10.0	-	-	-	-	-	-	2	6.2	1	7.7

nR Número de cepas resistentes, %R porcentaje de cepas resistentes. UPP Unidad de Producción Pecuaria, Anti. (Antibiótico), CTX (Cefotaxime, 30 μg), CAZ (Ceftazidima, 30 μg), TE (Tetraciclina, 30 μg), NA (Ácido Nalidíxico, 30 μg), CIP (Ciprofloxacino, 5 μg), AM (Amikacina, 10 μg), GE (Gentamicina, 10 μg)

El mayor porcentaje de resistencia fue para tetraciclina con un 45.37% seguido de ácido nalidíxico con un 18.48%, gentamicina con un 6.72%, ciprofloxacina con un 3.36% y amikacina con un 1.68%. Para los antibióticos como la cefotaxima y la ceftazidima no se presentó resistencia. Se presentó resistencia intermedia a tetraciclina en un 0.84%, ácido nalidíxico con 10.08%, amikacina con 3.36% y gentamicina con un 0.84%. Se detectaron 5 cepas multirresistentes 1 del establecimiento 5, resistente a TE, CIP y NA, 3 del establecimiento 7, resistentes a TE, CIP, GE y NA y 1 del establecimiento 8 resistente a TE, CIP, GM y NA. No se encontraron cepas β -lactamasas de espectro extendido ya que no se encontraron cepas resistentes a ceftriaxona y ceftazidima, por lo tanto no se realizó la prueba de β -lactamasa de espectro extendido para demostrar la presencia fenotípica de cepas con la enzima β -lactamasa.

DISCUSIÓN

La resistencia a los fármacos constituye un problema en la Salud Pública extremadamente grave, el uso indiscriminado de estos productos ha hecho que las bacterias desarrollen estrategias que les permitan evadir con efectividad la acción de estos antimicrobianos (Cabrerá, 2007). Las investigaciones publicadas sobre la prevalencia de la resistencia bacteriana en bacterias entéricas aislados de ovejas y cabras es escasa (Scott y Menzies, 2011), en México se tienen registradas alrededor de 53,000 unidades de producción ovina, que están distribuidas aproximadamente de la siguiente forma: 53% en el centro, 24% en el sur-sureste y 23% en el norte (PROGAN, 2010) y se cuenta con estudios muy escasos acerca de la resistencia a antimicrobianos en esta especie. En la actualidad, varios países vigilan las tendencias en el uso de antimicrobianos, se monitorea más la resistencia a antimicrobianos en ganado, cerdos y aves de corral, esto no incluye pequeños rumiantes como borregos y cabras (Scott *et al.*, 2012). La mejor forma de minimizar la emergencia de resistencia bacteriana, es racionalizar el uso de antimicrobianos, mediante o bajo la responsabilidad de un Médico Veterinario, señalando que es necesario el registro sistemático de patrones de resistencia bacteriana, como también del uso de antimicrobianos en la práctica veterinaria (San Martín y Cañón, 2000).

La tetraciclina es un antimicrobiano que exhibe actividad contra diversos grupos de bacterias, motivo por el cual es ampliamente utilizado en la terapia en infecciones humanas y para la prevención y control de infecciones en plantas y animales (Miko *et al.*, 2005). En el presente trabajo se encontró una resistencia a Tetraciclina de 45.3 %, mientras que estudios sobre resistencia a la tetraciclina en *E. coli* de ovejas sanas de otros países varió de muy bajo en Grecia e Irán (1%), a moderados

en Canadá (12%) y España (20%), a la alta en estados unidos (33%) del Reino Unido (35% al 49 %) por otra parte, resistencia fue mucho mayor (76%) en *E. coli* aislado a partir de casos clínicos en España (Scott y Menzies, 2011).

Las β -lactamasas de espectro extendido son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación, son en su mayoría producidas por enterobacterias como *Escherichia coli* (Álvarez, 2010), en este estudio no hubo presencia de estas β -lactamasas, y no fue necesario realizar la prueba confirmatoria.

CONCLUSIONES

El antibiótico al cual se presentó mayor resistencia fue la tetraciclina con un 45.3 %. No se encontraron cepas con β -lactamasas de espectro extendido. Se encontraron 3 cepas multirresistentes pertenecientes a dos establecimientos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la UAEM, Proyecto 3560/2013CHT.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez A. D., (2010), Identificación de beta-lactamasas de espectro extendido en enterobacterias. Revista Habanera de Ciencias Médicas; 9(4): 516-524.
- Cabrera, C.E., Gómez, R.F., Zúñiga, A.E. (2007), La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia Médica; 38(2):149-158.
- CLSI (Clinical and Laboratory Estándar Institute), (2012), Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility, 22nd informational supplement. M100-S22. Wayne, PA, USA.
- Hamada K., Tsuji H., Oshima K., (2002), Identification and caracterizacion of transferable integron-mediated antibiotic resistance among *Salmonella* serovar *typhimurium* and *Salmonella* serovar *infantis* isolates from 1991. J. Infect. Dis; 55:135-138.
- PROGAN, (2010). Programa Nacional Ganadero. SAGARPA. <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Programas/Paginas/PROGRAM.aspx>, (30 de Enero de 2015)
- Miko A., Pries K., Schroeter A., Helmuth R., (2005), Molecular mechanisms of resistance in multidrug resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. J. Antimicrob. Chemother; 56:1025-1033
- San Martín B., Cañón H., (2000), Resistencia bacteriana: Un problema mundial en medicina veterinaria y humana. Monografías de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile; 20(2).

- Scott L., Menzies P., (2011), Antimicrobial resistance and small ruminant veterinary practice. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; 27 : (1) 23-32.
- Scott L, Menzies P, Reid-Smith, RJ, Avery BP, McEwen SA, Moon CS., Berke O. (2012): Antimicrobial resistance in fecal generic *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* obtained from Ontario sheep flocks and associations between antimicrobial use and resistance. *Can J Vet Res*; 76:(1) 109–111.
- Sumano H., Ocampo L., (2006), *Farmacología Veterinaria*, Editorial Mc Graw Hill, México, pág. 235-248, 306-328.

ANTIBIOTIC RESISTENCE OF *Escherichia Coli* ISOLATED FROM LAMBS FAECES OF THE STATE OF MEXICO.

SUMMARY

The study was performed with 182 faecal samples were obtained from healthy and non-healthy lambs with, that were up to one until 6 month old. The aim of this study was to evaluate the susceptibilities of *Escherichia coli*, strains isolated from healthy and non-healthy lambs, to cephalosporins, quinolones, tetracycline and aminoglycosides. The samples of rectal swabs were taken in eight Units of Livestock Productions of the State of Mexico. The bacterial strains were isolated by performed EMB agar for the isolation of *E. coli*; the suspicious strains underwent biochemical tests. Resistance to antibiotics was performed by the technique of diffusion in the solid medium with single antibiotic disk and resistance evaluation was conducted based on CLSI, 2012. Of the 119 strains of *E. coli* observed resistant 45.3% to tetracycline, 18.4% to nalidixic acid, 6.7% to gentamicin, 3.3% to ciprofloxacin and 1.6% to amikacin. Five multidrug-resistant strains were found. Not resistant to β -lactam antibiotics, like cefotaxime and ceftazidime, studied strains were found. The results indicate the presence of antibiotic resistance in isolates, first place to tetracyclines, widely used in sheep production; in addition to presenting some strains with multidrug resistance. Therefore, there is a latent treatment failure in the event of outbreaks from *E. coli* diarrhea; without isolation and in vitro susceptibilities tests performed.

Key words: *Escherichia coli*, antibiotic resistance, lambs

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* AISLADOS DE MUESTRAS DE CASOS CLÍNICOS DE LINFADENITIS CASEOSA EN OVINOS Y CAPRINOS Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS ABSCESOS

HERNÁNDEZ, F.*; ACOSTA, J.; VÁZQUEZ, J. y MONTES DE OCA, R.**

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal,
Kilometro 15.5 Carretera Panamericana Toluca- Atlacomulco. Toluca,
Estado de México. C.P.50200.

*erlich_511@hotmail.com; **romojimenez@yahoo.com

RESUMEN

La linfadenitis caseosa es una enfermedad infectocontagiosa de las ovejas y cabras, causada por la bacteria Gram positiva *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovariedad ovis. La enfermedad se caracteriza por la formación de abscesos en nódulos linfáticos, piel y diversos órganos internos en pequeños rumiantes. Los sistemas estabulados debido a los materiales de construcción y a la alta carga animal facilitan la diseminación y permanencia del agente en las instalaciones. Este es un problema serio que afecta a la gran mayoría de productores Mexicanos y puede tener implicaciones zoonóticas. El objetivo del presente trabajo fue aislar al patógeno *C. pseudotuberculosis* de muestras procedentes de abscesos superficiales de ovinos (180) y caprinos (19), identificar molecularmente por medio de la técnica de PCR de los genes *plD*, *16s* y *rpoB* y establecer la relación del aislamiento con las características clínicas de los abscesos. Se logró el aislamiento bacteriológico e identificación molecular de 69 cepas de *C. pseudotuberculosis* que representa el 33% de las muestras analizadas. *C. pseudotuberculosis* se aisló del 44.9% de exudado seropurulento y sólo el 17.4% del exudado caseoso, además la mayoría de los aislados fueron obtenidos de absceso menores de 5cm. La técnica de PCR Multiplex para la identificación definitiva de los aislamientos resultó sencilla y aplicable. El aislamiento positivo de *Corynebacterium* se relacionó con abscesos de menor tamaño y el exudado no siempre fue caseoso como se describe habitualmente en la bibliografía.

Palabras clave: Linfadenitis caseosa, PCR, *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

INTRODUCCIÓN

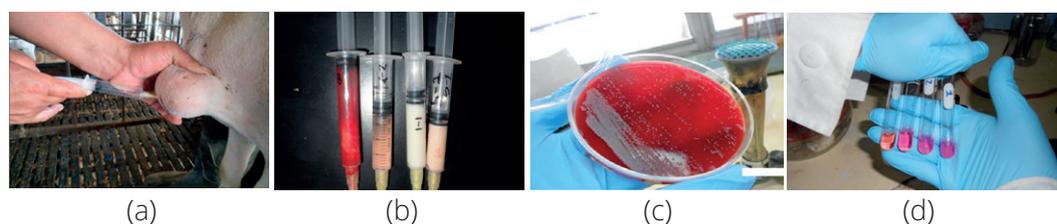
La linfadenitis caseosa es una enfermedad infectocontagiosa de las ovejas y cabras, generando además abscesos y granulomas cutáneos en equinos y bovinos y representa una zoonosis importante (Anderson *et al.*, 2004; Braga *et al.*, 2006; Join-Lambert *et al.*, 2006;). Es causada por la bacteria Gram positiva *Corynebacterium pseudotuberculosis*. La enfermedad se caracteriza por la formación de abscesos en nódulos linfáticos, piel y diversos órganos internos en pequeños rumiantes y su tamaño oscila entre 0.5 a 15 cm y con paredes de 3mm de grosor (Baird y Fontaine, 2007; Pekelder, 2000; Robles, 2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* es una bacteria mesófila, patógeno intracelular facultativo que pertenece al grupo llamado CMNR (*Corynebacterium-Mycobacterium-Nocardia-Rodococcus*). Las técnicas diagnósticas para *Corynebacterium pseudotuberculosis* se basan principalmente en un examen clínico de las lesiones y la identificación mediante pruebas fenotípicas y bioquímicas que tienden a ser problemáticas por la variabilidad de las características bioquímicas de *Corynebacterium* (Dorella *et al.*, 2006; D'Afonseca *et al.*, 2008). Estudios recientes sugieren la utilización del PCR para simplificar la identificación de esta especie bacteriana. Los genes utilizados para el diagnóstico por PCR son: fosfolipasa D (*pld*), el gen *rpoB* y el gen *16s* que en conjunto dan como resultado un PCR de alta sensibilidad, reproducibilidad y eficacia en el diagnóstico de *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Pacheco *et al.*, 2007., Pinto *et al* 2014). Debido a la gran importancia de *C. pseudotuberculosis* en veterinaria, y teniendo en cuenta la problemática de las técnicas diagnósticas en la identificación del agente para poder llevar a cabo la prevención y control de la enfermedad en las explotaciones ovinas y caprinas y su potencial zoonótico se llevó a cabo la identificación molecular de *Corynebacterium pseudotuberculosis* aislados de muestras de casos clínicos de linfadenitis caseosa en ovinos y caprinos y la relación de los aislados con las características clínicas de los abscesos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 209 muestras obtenidas de abscesos cutáneos de ovinos (180) y caprinos (19). Se consideró como animal afectado (positivo) a todo aquel que presentara lesiones abscedativas en nódulos linfáticos superficiales de la región preclural, preescapular, parotídeos, submaxilares, retromamarios e inguinales (**1.a**). Se registró el número y distribución de lesiones abscedativas encontradas en el animal y se levantó un cuestionario por individuo muestreado. Las muestras se sembraron en medio de cultivo de gelosa sangre, incubándolas a 37°C por

24-48 horas, en presencia de oxígeno y en condiciones microaerofilicas. El aislamiento del agente se llevó a cabo por bacteriología (1.c), perfil bioquímico (1.d) y API coryne (2.a). Se observó el crecimiento o no de colonias, y se procedió a identificar los crecimientos significativos: colonias de 2 mm de diámetro de color crema y rodeadas de una zona de hemólisis incompleta. A los aislamientos se les realizó la tinción de Gram: bacilos morados cortos y curvos. La caracterización molecular se llevó a cabo mediante el uso de la técnica PCR multiplex con la identificación del gen *16s* y *rpob*, además de la identificación y presencia del gen de virulencia y patogenicidad: *pld* como se muestra en la imagen (2.b) carril 1: marcador peso molecular, carril 2: control +, carril 3: control blanco, carril 4: control -, carril 6-10: aislados. Banda inferior *pld*, banda intermedia *rpob*, banda superior *16s*.

Figura 1. (a) Toma de muestra, (b) tipos de exudado, (c) bacteriología en gelosa sangre, (d) perfil bioquímico.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró identificar bacteriológicamente, bioquímicamente y molecularmente un total de 69 cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* al igual que lo reportado por Pacheco (Pacheco *et al.*, 2007) En relación al perfil bioquímico se observaron muchas variaciones; las cuales ya han sido mencionadas por otros autores (Dorella *et al.*, 2006; D'Afonseca *et al.*, 2008), por lo cual el perfil bioquímico tiende a ser obsoleto en la identificación del agente. En relación a las características clínicas de los abscesos se logró identificar que los aislados positivos se obtuvieron en su mayoría de lesiones de cabeza y cuello y en abscesos de tamaño de menos de 5cm de diámetro (3) y de exudados de aspecto serosanguinolento (1.a). Todo esto difiere a lo mencionado por otros autores en otras regiones del mundo donde se menciona aislamiento en abscesos de mayor tamaño y en presencia de exudado caseoso y principalmente en nódulos linfáticos prefemorales y preescapulares (Batey, 1986; Riet-Correa, 2007; Fontaine y Baird, 2008).

Figura 2. (a) API Coryne, (b) PCR Multiplex con la amplificación de tres genes (pId, rpoB y 16s).

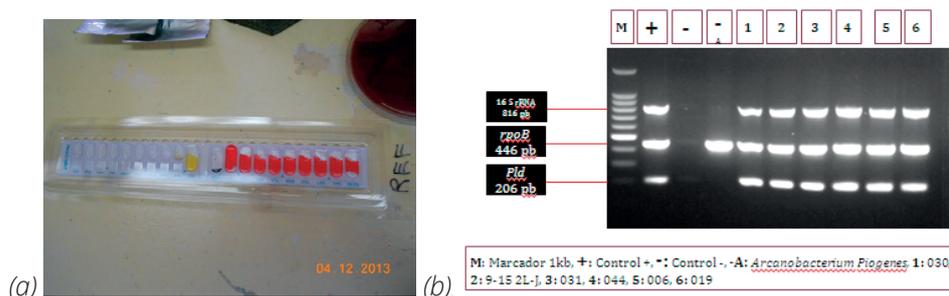


Figura 3. Tamaño del absceso y aislamientos obtenidos en ovinos y caprinos del Estado de Jalisco, México.

TAMAÑO DEL ABSCESO	AISLAMIENTO				TOTAL
	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	<i>Corynebacterium Spp</i>	<i>Proteus spp</i>	<i>Streptococcus spp</i>	
< 5 cm	53	2	15	4	74
5.1 - 10 cm	11	1	7	2	21
Sin determinar	5	0	2	1	8
TOTAL	69	3	24	7	103

CONCLUSIONES

La Linfadenitis caseosa es una enfermedad ampliamente distribuida en las explotaciones ovinas en México. La diseminación de esta enfermedad se atribuye a las condiciones de los corrales por la presencia de materiales punzocortantes. Los aislamientos de *Corynebacterium pseudotuberculosis* fueron de abscesos menores de 5 cm. El PCR podría considerarse como la técnica diagnóstica más sensible y específica en la identificación de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson De., Rings Dm., Kowalski J. (2004). Infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* in five alpacas. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*. 225:1743–1747.
- Baird GJ., Fontaine MC. (2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *Journal of Comparative Pathology*. 137:179–210.
- Batey R.G. (1986). Frequency and consequence of caseous lymphadenitis in sheep and lambs slaughtered at Western Australian abattoir. *American Journal of Veterinary Research*. 47, 482-485.

- Braga Wu., Chavera A., Gonzalez A. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in highland alpacas (*Lama pacos*) in Peru. *Veterinary Record*.159: 23–24.
- D’afonseca V., Moraes Pm., Dorella Fa., Pacheco Lcg., Meyer R., Portela Rw., Miyoshi A., Azevedo V. (2008). A description of genes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* useful in diagnostics and vaccine applications. *Genetics and Molecular Research*.7(1):252-260.
- Dorella Fa., Pacheco Lgc., Oliveira SC. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Veterinary Research* 37, 201–218.
- Join-Lambert Of., Ouache M., Canioni D., Beretti Jl., Blanche S., Berche P., Kyal S. (2006). *Corynebacterium pseudotuberculosis* necrotizing lymphadenitis in a twelve-year-old patient. *The Pediatric Infectious Disease Journal*.25: 848–851.
- Pacheco Lgc., Pena Rr., Thiago Lp., Dorella Fa., Bahia Rc., Marcilio Mc., Frota Nl., Oliveira Sc., Meyer R., Alves Sf., Miyoshi A., Azevedo V. (2007). Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. *Journal of Medical Microbiology*.56:480–486.
- Pekelder JJ. (2000). Caseous lymphadenitis. In *Diseases of Sheep*. Blackwell Science Oxford: 270–274.
- Pinto Ac., Caracciolo Ph., Gomes De Sá R., Ramos Tj., Barbosa S., P Melo Barbosa H., Ribeiro Ac., Silva Wm., Rocha Fs., Santana Ms., Castro Tlp., Miyoshi A., Schneider M., Silva S., Azevedo V. (2014). Differential transcriptional profile of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in response to abiotic stresses. *BMC Genomics*.15–14.
- Riet-Correa F. (2007). Linfadenite caseosa, In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Eqüídeos*. 3^a ed. Pallotti, Santa Maria. pp.347-352.
- Robles CA. (2007). South America Patagonia. In *Diseases of Sheep*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford: 524–534.

MOLECULAR IDENTIFICATION OF *Corynebacterium pseudotuberculosis* SAMPLES ISOLATED CASE REPORTS OF CASEOUS LYMPHADENITIS IN SHEEPS AND GOATS AND ITS RELATIONSHIP WITH CLINICAL FEATURES ABSCESES

SUMMARY

The caseous lymphadenitis is an infectious disease of sheep and goats caused by Gram-positive bacterium *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*. The disease is characterized by the formation of abscesses in lymph nodes, skin and many internal organs in small ruminants. The stabled systems due to building materials and high stocking facilitate the spread and persistence of the agent on site. This is a serious problem affecting the vast majority of Mexican producers and is a zoonotic implication. The aim of this work was to isolate the pathogen *C. pseudotuberculosis* samples from superficial abscesses of sheep (180) and goats (19), identify molecularly through PCR of the *pld*, *16s* and *rpoB* genes and isolation establish the relationship with clinical characteristics abscesses. Bacteriological isolation and molecular identification of 69 strains of *C. pseudotuberculosis* which represents 33% of the samples was achieved. *C. pseudotuberculosis* was isolated from 44.9% of seropurulent exudate and only 17.4% of caseous exudate, also most of the isolates were obtained from less abscesses of 5 cm. Multiplex PCR for definitive identification of the isolates resulted simple and applicable. Isolating positive *Corynebacterium* relates smaller abscesses and caseous exudate was not always as commonly described in the literature.

Key words: caseous lymphadenitis, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, PCR.

LACTATO DEHIDROGENASA: UN POTENCIAL BIOMARCADOR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA MAMITIS SUBCLÍNICA EN EL GANADO CAPRINO

GÓMEZ-GASCÓN, L.^{1,2}; GALÁN-RELAÑO, A.¹; CARDOSO-TOSET, F.^{1,3}; ASTORGA, R.J.¹; ARÉVALO-RODRÍGUEZ, M.² y GÓMEZ-LAGUNA, J.³

¹Departamento de Sanidad Animal. Universidad de Córdoba. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario 'CeIA3' Campus Universitario de Rabanales, 14071 Córdoba.

²Biomedal, Sevilla.

³CICAP, 14400 Pozoblanco, Córdoba.

RESUMEN

La mamitis subclínica es uno de los problemas más graves a nivel mundial en el ganado lechero, dando lugar a la pérdida de la producción de leche, disminuyendo la calidad y precio de la misma. Aunque el recuento automatizado de células somáticas (RCS) es una de las técnicas de referencia para diagnosticar ésta patología, en el ganado caprino existen factores no infecciosos que pueden afectar a dicho parámetro, cuestionándose su uso. Esto evidencia la necesidad de un método de diagnóstico de mamitis más válido en éste ganado. La detección de proteínas que aumentan su concentración en leche debido a un daño o infección como las de fase aguda, las de acción antimicrobiana o diferentes enzimas podrían ser interesantes como biomarcadores. Hemos evaluado 5 biomarcadores de mamitis subclínica, amiloide A; lactoferrina, pentraxina-3, N-acetil- β -glucosaminidasa y Lactato Deshidrogenasa (LDH), midiendo su concentración en 49 muestras (leche de tanque), así como el RCS, bacterias totales (RBT) y aislamiento individual de patógenos. Tras el análisis estadístico, la LDH presentó buena correlación con el RCS y RBT, por lo que se estudió a nivel individual en dos explotaciones diferentes, mostrándose como una opción interesante para el diagnóstico de las mamitis subclínicas en el ganado caprino.

Palabras clave: lactato dehidrogenasa, biomarcadores, mamitis subclínica, caprino.

INTRODUCCIÓN

La mamitis subclínica es uno de los problemas económicos más graves a nivel mundial en el ganado lechero, ya que puede dar lugar a la pérdida temporal o permanente de la producción de leche así como a la disminución de la calidad y precio de la misma (Stuhr *et al.*, 2013). Hoy en día las mamitis subclínicas pueden diagnosticarse a través de métodos indirectos, siendo el recuento de células somáticas (RCS) el más usado. Las técnicas más aceptadas son el California Mamitis Test (CMT), por la facilidad de uso a nivel de campo, y el RCS, con contadores automáticos, por su sensibilidad y especificidad. Sin embargo, hay que tener en cuenta las limitaciones del uso de estas técnicas en el ganado caprino ya que, el aumento de RCS está influenciado además de por la infección intramamaria, por el estrés, la edad, el estro o el período de lactancia entre otras variables fisiológicas (Silanovike *et al.*, 2006). Por otro lado, el hecho de que la glándula mamaria tenga una secreción de tipo apocrino, hace que se libere gran cantidad de partículas citoplasmáticas con un tamaño similar a las células somáticas, pudiendo dar recuentos sobreestimados con contadores automáticos. Todo esto hace notoria la necesidad de desarrollar un sistema de detección de esta patología que sea barato, certero y fácil de usar en el ganado caprino. La detección de proteínas que aumentan su concentración en leche debido a un daño o infección se ha perfilado como una herramienta de interés para el estudio de la mamitis subclínica (Silanovike *et al.*, 2006; Olumee-Shabon *et al.*, 2013). La mayoría de las proteínas detectadas tras infecciones experimentales y en infecciones naturales son proteínas relacionadas con la respuesta a la infección por parte del hospedador, como las proteínas de fase aguda o las proteínas de acción antimicrobiana (Cremonesi *et al.*, 2012). Por otro lado, la leche contiene una gran variedad de enzimas secretadas tanto por las células epiteliales de la glándula mamaria como por los leucocitos que son reclutados en la mama debido a una infección, lo que respalda determinar la actividad de dichas enzimas como método diagnóstico de las mamitis subclínicas (Cremonesi *et al.*, 2012; Olumee-Shabon *et al.*, 2013). Por todo ello, el objetivo de este trabajo consistió en identificar y validar un potencial biomarcador de mamitis subclínica para el ganado caprino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para alcanzar nuestro objetivo llevamos a cabo dos estudios. En el primer estudio se evaluaron 5 proteínas como posibles marcadores de mamitis subclínica en el ganado caprino: la proteína de fase aguda MAA (Milk Amyloid A Assay Kit, Tridelta), las proteínas de acción antimicrobiana LF (Goat Lactoferrin Elisa Kit; BlueGene) y PTX3 (Goat Pentraxin 3

Elisa Kit, BlueGene) y las enzimas NAGasa (B-N-Acetylglucosaminidase Assay Kit, Sigma) y LDH (Lactate Dehydrogenase Activity Colorimetric Assay Kit, Biovision). Para ello se midieron estas proteínas en leche de tanque de 49 explotaciones. Las mediciones se realizaron con los kits comerciales indicados siguiendo las instrucciones del fabricante con diferentes modificaciones para su adaptación a leche completa. Además, en cada una de las muestras se midió el RCS y RBT mediante citometría de flujo y se realizó aislamiento e identificación individual de patógenos empleando medios de cultivo específicos y diferentes pruebas bioquímicas.

En el segundo estudio, una vez establecida la LDH como un posible biomarcador, se seleccionaron dos explotaciones con altos RCS y de RBT para recoger leche de animales (21 animales/explotación) aparentemente sanos a lo largo de su lactación, las muestras fueron tomadas durante los tres primeros meses de lactación con un intervalo de dos semanas entre muestreos. A partir de las muestras tomadas se determinó la concentración de dicha proteína para estudiar su relación con la mamitis (midiendo RCS, RBT y aislamientos individuales de patógenos) así como su variación con respecto a los 3 primeros meses de lactación. Para poder discernir entre animales positivos o negativos a mamitis subclínica se establecieron diferentes umbrales para categorizar las muestras como positivas o negativas basados en el RCS y/o el RBT. En cuanto al RBT los umbrales establecidos fueron los siguientes: (1) > 50.000 bacterias; (2) > 200.000 bacterias; y, (3) > 500.000 bacterias. Para el RCS se establecieron: (1) > 1 millón de CS; (2) > 1,5 millones de CS; y, (3) > 2 millones de CS. Establecidos dichos criterios se analizaron estadísticamente los datos mediante el software MedCalc para establecer los puntos de corte de la LDH con su correspondiente sensibilidad y especificidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el primer estudio se observó que las únicas proteínas de las seleccionadas que presentaron alguna correlación significativa con alguno de los parámetros medidos fueron la LF y la LDH. La LF presentó una correlación significativa sólo con el RCS, con lo que podría presentar las mismas limitaciones que el uso de RCS como indicador de mamitis. La LDH presentó una correlación significativa tanto con el RCS como con el RBT, resultados que coinciden con los de otros autores, quienes también indican que esta enzima puede ser un buen indicador de mamitis subclínicas en cabras (Katsoulos *et al.*, 2010; Stuhr *et al.*, 2013).

En el segundo estudio centrado en la LDH como potencial biomarcador de la mamitis subclínica en el ganado caprino, no se evidenciaron diferencias significativas en la concentración en leche de la enzima LDH a lo largo de los tres primeros meses de lactación al contrario de lo que han observado otros autores (Katsoulos *et al.*, 2010; Stuhr *et al.*, 2013). Por otro lado, sí que se observó nuevamente una correlación significativa tanto con el RCS como con el RBT en las muestras de las dos explotaciones analizadas en este segundo estudio. Posteriormente en base a los criterios establecidos para clasificar las muestras como positivas o negativas se analizaron estadísticamente los datos para establecer los puntos de corte de la LDH con su correspondiente sensibilidad y especificidad. En la tabla 1 se presentan los resultados combinados de ambas explotaciones que presentaron los mejores valores de sensibilidad y especificidad con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 1. Datos de puntos de corte (cut-off), sensibilidad (S) y especificidad (E) en función de los criterios establecidos. Explotación 1 y 2.

Criterio	Nº muestras	muestras +	muestras -	Cut-off	S	E
> 50000 bacterias y > 1 millón CS	231	19	212	0,152	89,5	74,5
> 200000 bacterias y > 1 millón CS	231	8	223	0,38	87,5	91
> 500000 bacterias y > 1 millón CS	212	4	208	1,1	100	100

Se seleccionaron 3 umbrales, de más a menos restrictivos: (1) > 1 millón RCS y > 50.000 bacterias/ml; (2) > 1 millón RCS y > 200.000 bacterias/ml; y, (3) > 1 millón RCS y > 500.000 bacterias/ml. Los umbrales de LDH (Figura 1) que se establecieron en función de estos criterios fueron los siguientes: (1) $LDH \leq 22,4$ mU/ml, para muestras negativas a mamitis subclínicas; (2) $22,4 \text{ mU/ml} < LDH < 72,93$ mU/ml, para muestras con >de 1 millón en el RCS y > 50.000 bacterias/ml (Se= 89,5 %; Esp=74,5%); (3) $72,93 \text{ mU/ml} < LDH < 231,25$ mU/ml, para muestras con > de 1 millón en el RCS y > 200.000 bacterias/ml (Se = 87,5 %; Esp = 91 %); y, (4) $LDH \geq 231,25$ mU/ml, para muestras con > de 1 millón en el RCS y > 500.000 bacterias/ml (Se = 100 %; Esp = 100%).

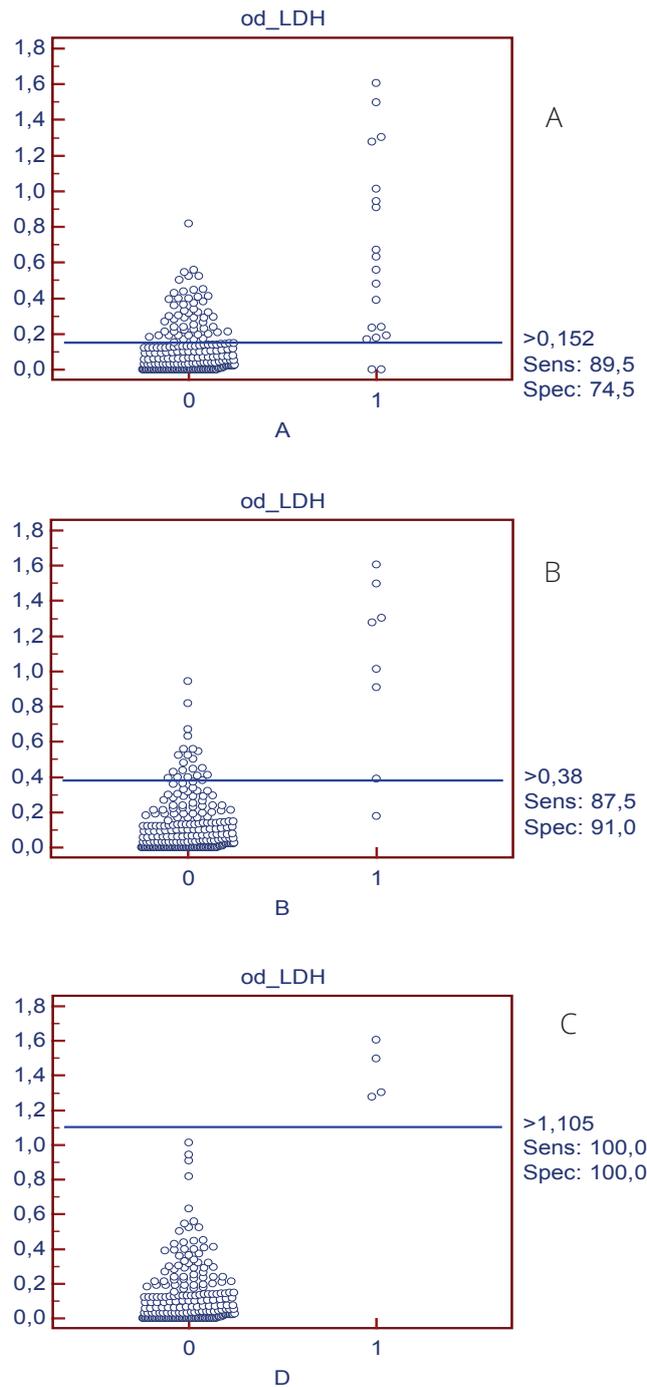


Figura 1. Representación gráfica del punto de corte de la LDH y la dispersión de los datos de las muestras clasificadas en positivas y negativas. A) criterio 1, B) criterio 2 y C) criterio 3.

Nuestros resultados son similares a los descritos por otros autores (Katsoulos *et al.*, 2010; Stuhr *et al.*, 2013), aunque se aprecian pequeñas diferencias que se pueden deber a varios aspectos: (1) la definición de caso positivo; (2) el tipo de muestra utilizado para el ensayo; y, (3) la técnica diagnóstica utilizada.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados reflejan que la LDH representa una opción interesante como biomarcador para el diagnóstico de mastitis subclínica en el ganado lechero caprino.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de las actividades llevadas a cabo en el proyecto CAPRITEC “Tecnologías para la Optimización de la Sanidad, Producción y Productos de la Leche de Cabra en Andalucía” (Convocatoria FEDER-INNTERCONECTA 2013; EXP 00064956/ITC-20131070).

BIBLIOGRAFÍA

- Cremonesi, P. *et al.*, (2012). Response of the goat mammary gland to infection with *Staphylococcus aureus* revealed by gene expression profiling in milk somatic and white blood cells. *BMC Genomics*, 13(1), 540.
- Katsoulos, P. D. *et al.*, (2010). The role of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase in the diagnosis of subclinical intramammary infections in dairy sheep and goats. *The Journal of Dairy Research*, 77(1), 107–11.
- Olumee-Shabon, Z., Swain, T., Smith, E. A., Tall, E., &Boehmer, J. L. (2013). Proteomic analysis of differentially expressed proteins in caprine milk during experimentally induced endotoxin mastitis. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2903–12.
- Silanikove, N., Merin, U., &Leitner, G. (2006). Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture. *International Dairy Journal*, 16(6), 533–545.
- Stuhr, T., Aulrich, K., Barth, K., Knappstein, K., & Larsen, T. (2013). Influence of udder infection status on milk enzyme activities and somatic cell count throughout early lactation in goats. *Small RuminantResearch*, 111(1-3), 139–146.

LACTATE DEHYDROGENASE: A POTENTIAL BIOMARKER FOR THE DIAGNOSIS OF SUBCLINICAL MASTITIS IN GOATS

SUMMARY

Subclinical mastitis is one of the most serious problems worldwide in dairy livestock, resulting in loss of milk production and reducing the quality and its price. Although the automated somatic cell count (SCC) is considered as the gold standard for diagnosing this disease, there are no infectious factors in goats that may affect this parameter, questioning its use. These features highlight the necessity of developing a diagnostic method for mastitis adequate to caprine. Detection of proteins, such as acute phase proteins, antimicrobial action proteins and different enzymes, which increase its concentration in milk because of damage or infection might be interesting as potential biomarkers. In the present study, we evaluated five biomarkers of subclinical mastitis, milk amyloid A; lactoferrin, pentraxin-3, N-acetyl- β -glucosaminidase and Lactate Dehydrogenase (LDH), measuring its concentration in 49 bulk tank milk samples and the SCC, total bacteria count (TBC) and individual isolation of pathogens. After statistical analysis, LDH showed good correlation with the SCC and TBC, and was individually studied in two different farms, appearing as interesting parameter for the diagnosis of subclinical mastitis in goats.

Key words: lactate dehydrogenase, biomarker, subclinical mastitis, goat.

Mycoplasma mycoides subsp *capri* AISLADOS DE CABRAS SANAS Y ENFERMAS: PREVALENCIA Y TIPIFICACIÓN

MIRANDA-MORALES, R.E.; JIMENEZ, M.A.; ROJAS, T.V. y TRIGO F. J.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. Ciudad Universitaria, México. D.F.

RESUMEN

Un total de 707 muestras de leche e hisopos nasales de rebaños de cabras de dos diferentes regiones. En este estudio se aislaron 29 (4%) *Mycoplasma* del grupo *mycoides* de animales sanos y con problemas de micoplasmosis. Los aislados fueron caracterizados por bioquímicas y con la PCR 16S DNAr específico de especie. La especie identificada fue *Mmc* de 33 aislados. Este estudio concluye que *Mmc* puede ser el agente etiológico de la mastitis y de la infección respiratoria en los caprinos de la región en estudio en México.

Palabras clave: *Mycoplasma mycoides*, mastitis, neumonía, PCR.

INTRODUCCIÓN

En la micoplasmosis caprina podemos observar mastitis, artritis, neumonías, queratoconjuntivitis, septicemia y meningitis. (Frey 2002). Signología similar inducida por las especies del grupo *mycoides* y por *M. agalactiae* y *M. putrefaciens*. Aunque *M. agalactiae* es conocida como el agente responsable de la agalactia contagiosa y /o mastitis otras especies del grupo *mycoides* estan asociadas a la mastitis y a problemas respiratorios en diferentes países. Es así que, *Mycoplasma mycoides* subsp *capri* (*Mmc*) es un microorganismo, del grupo *mycoides*, patógeno de las cabras y responsable de causar altas pérdidas económicas en la producción láctea, así como problemas respiratorios con alta morbilidad y mortalidad.

México es considerado el segundo productor de caprinos en Latinoamérica (FAO 2007) En el 2006 (Hernández *et al.*) reportaron un brote por *Mmc* ocasionando problemas respiratorios severos con alta mortalidad en la región norte del país y no asociado a problemas de mastitis, después de más una década se desconoce la presencia de *Mmc* en la población caprina. Es determinante aislar e identificar metabólicamente y molecularmente la especie asociada en la micoplasmosis caprinas en la región que tiene el 20% de la población nacional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Un total de 707 muestras de leche e hisopos nasales fueron colectadas de dos regiones diferentes que se caracterizan de tener la mayor población caprina nacional de producción láctea. Una región con el manejo semiextensivo (Oaxaca) y una región de explotación intensiva con granjas tecnificadas (Guanajuato). Las razas fueron: Saanen, Alpina francesa, Toggenburg. Las muestras provenían de cabras sanas que no presentaban problemas de mastitis y respiratorios por un año y de cabras que aparentemente presentaban mastitis y problemas respiratorios. Se trabajaron 402 muestras de hisopos nasales y 305 muestras de leche. La muestra de leche se colectó, antes del ordeño, asépticamente y en recipientes estériles. Los cuartos fueron desinfectados con alcohol al 70% y los cinco primeros chorros fueron descartados. Los hisopos nasales se colectaron de las fosas nasales rotando el hisopo en la mucosa nasal, los hisopos se depositaron en el medio de Hayflick. Las muestras de leche e hisopos nasales se conservaron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.

Las muestras se procesaron como lo indica (Tully *et al.*, 1993). La muestra de leche e hisopo nasal fueron inoculados en el medio de Hayflick líquido y sólido, fueron incubados a 37°C en condiciones de microaerofilia 5- 10% CO₂, cada 7 días eran transferidas a medio líquido y sólido para permitir el desarrollo de las colonias características de micoplasma. Identificación bioquímica.

Los aislados fueron identificados como *Mycoplasma* spp con la prueba de la digitonina, filtrabilidad 0.45 µm, reversión de formas L y para la identificación de especie se realizaron las pruebas bioquímicas: fermentación de la glucosa, reducción de tetrazolium, hidrólisis de la gelatina, hidrólisis de la caseína y film and spot, como lo describe Whitford., *et al.*, (1994).

Identificación molecular

El ADN genómico de cada uno de los aislados y de la cepa tipo de *Mycoplasma mycoides* subsp *capri* fueron extraídos con el método de tiocinato de guanidina (Sambrook y Russell 2001). La pureza fue analizada en un gel de agarosa al 1% y la concentración del ADN se determinó con un espectrofotómetro. La identificación de *Mycoplasma* del grupo *mycoides* se confirmó utilizando una PCR específica 16S ADNr con el primer F-CTGGCTGTGTCCTAATACATGC y R-CTTCGGGCATTACCAGCTCC por 28 ciclos (35 seg 94°C; 50 seg 69°C y 60 seg 72°C). que amplifica un producto de 970 pb. Posteriormente se realizó la digestión con la enzima de restricción Alu I, los fragmentos de la digestión se observaron en un gel de agarosa al 2%.

RESULTADOS

De los 707 muestras analizadas, 29 (4.1%) mostraron turbidez y pH ácido en 24-72 horas, la siembra en el medio solido de Hayflick mostró las colonias típicas de micoplasmas. Las colonias fueron purificadas e identificadas como *Mycoplasma* spp con las pruebas de filtrabilidad, digitonina y reversión de formas L. 23 (3.25%) aislados proveían de muestras de leche y 6 (0.84%).de hisopo nasal. De las muestras positivas se lograron purificar 42 colonias, las cuales fueron tipificadas bioquímicamente como *Mmc* 33 (78%) que reaccionaron positivamente a la fermentación de la Glucosa, Manosa, Digestión de la Caseína, y Tetrazolio, y reaccionaron negativamente a Fosfatasa, y Arginina; y 7 (16.6%) cepas se diagnosticaron como *Mcc* que reaccionaron positivamente a la fermentación de la glucosa, manosa, digestión de la caseína, fosfatasa alcalina y a la reducción del tetrazolio, y fueron negativas a la hidrólisis de la arginina. En la identificación molecular 31 aislados fueron identificados como *Mycoplasma* del grupo *mycoides* con la PCR para la 16S ADNr que mostraron un amplicon de 970 pb, el producto de la PCR en la digestión enzimática mostró tres fragmentos en 235, 421, 605 identificando a *Mmc*. Las cepas restantes fueron identificadas como *Mycoplasma* spp. (Tabla 1)

Tabla 1. Identificación bioquímica y molecular de los aislados de *Mycoplasma* spp.

Muestra	PCR <i>Mmc</i>	PCR <i>Mycoplasma</i> spp	Total	Bioquímica			Total
				<i>Mmc</i>	<i>Mcc</i>	spp	
Leche	25	10	35	26	7	1	34
Hisopo	6	1	7	7	0	1	8
Total	31	11	42	33	7	2	42

DISCUSIÓN

Los micoplasmas fueron aislados en 29 de 707 cabras estudiadas con una prevalencia del 4%. El resultado obtenido es similar al que se observó en Nigeria con (3.7%) (Ikhloea *et al.*, 2004) y (Vijay *et al.*, 2013) observaron un (3.5%) en la India. Prevalencias bajas en contraste con los valores más altos de (25-70%) en Extremadura, España (Gil *et al.*, 1999). Los aislados solo se lograron en la zona de estudio con manejo intensivo y tecnificada en contraste con la zona semiextensiva que no se aisló el agente, esto es debido a que en la zona semiextensiva no se realiza la importación de animales y el tipo de ordeño se realizaba de forma manual situación que muestra el bajo riesgo de que se presente la micoplasmosis así como otras infecciones en la población caprina. En los rebaños estudiados en explotaciones de mayor tecnificación que tiene la costumbre de importar animales de Canadá y USA o bien compran cabras de las zonas aledañas y que posiblemente estos animales sean portadores del microorganismo, situación que puede ocasionar una infección en el rebaño. En este estudio, se percibió un mayor aislamiento en las muestras de leche que en los hisopos nasales. Es frecuente que en el ordeño no se realicen buenas prácticas sanitarias que resultan en la introducción de los micoplasmas en el conducto mamario por el ordeño mecánico. Se ha observado que las infecciones por micoplasmas en los lactantes se adquieren por la ingesta del microorganismo por el calostro o en la leche. Similar situación que se presenta en la transmisión respiratoria por la inhalación de microgotas que contiene al agente de animales portadores. En las muestras se detectó más de una especie de micoplasma, los aislados fueron purificados y se obtuvieron un total de 33 cepas. Las cepas fueron identificadas como *Mycoplasma* spp con las pruebas sensibilidad a la digitonina, filtrabilidad y no reversión. La identificación bioquímica detectó dos especies de micoplasmas, 27 cepas fueron *Mmc* y 6 cepas *Mcc*, la alta similitud en las reacciones metabólicas entre los micoplasmas del grupo mycoides precisa de la caracterización individual de los aislados para evitar la confusión en el diagnóstico. Por lo que las 33 cepas fueron identificadas con la PCR 16S ADNr como *Mycoplasma* del grupo *mycoides* y la digestión enzimática arrojó tres fragmentos que identifica a 31 cepas como *Mmc* y dos cepas no mostraron ningún fragmento y que coinciden con *Mcc* identificadas bioquímicamente, es recomendable realizar una PCR para la identidad de la especie de *Mcc*. La identificación bioquímica de las 6 cepas como *Mcc* en la PCR específica mostró que 4 cepas mostraron la identidad para *Mmc*. No obstante que se encontró un bajo porcentaje de aislamiento de micoplasmas en las cabras aparentemente sanas y clínicamente enfermas en este estudio el portador sano indica un serio problema para el control de la micoplasmosis.

CONCLUSIÓN

El aislamiento e identificación de *Mmc* con la PCR 16S ADN permitió establecer la presencia de este microorganismo en los rebaños con manejo intensivo y tecnificados, este hallazgo permite valorar la no eficiente higiene que existe para el control de la mastitis y problemas respiratorio, así como el riesgo de la presencia del portador asintomático. La existencia de *Mmc* en la población de estudio que no mostraba alta morbilidad y mortalidad, permite desarrollar posteriormente estudios de variabilidad antigénica de los aislados de las diferentes regiones para determinar la patogenicidad de las cepas. Es importante señalar la posibilidad de encontrar otras especies de micoplasmas asociadas a problemas respiratorios y a la mastitis de la población caprina.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto DGAPA-PAPIIT, IN-222412

BIBLIOGRAFÍA

- Gil, M. C. M. De Hermoso Mendoza, J. Rey, J. M. Alonso, J. B. Poveda, and J. De Hermoso Mendoza, "Aetiology of caprine contagious agalactia syndrome in Extremadura, Spain," *Veterinary Record*, vol. 144, no. 1, pp. 24–25, 1999.
- Hernández AL, López J, Ontiveros CL, Jiménez GN. *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* Associated with goat respiratory disease and high flock mortality. *Can. Vet. J.* 2006; 47:366 -369.
- Proyecto Integral de Desarrollo y Capacitación Tecnológica para la Caprinocultura en el Estado de Puebla 2007. Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos A través del gobierno del estado de Puebla y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), para la ejecución del proyecto UTF/MEX/069/MEX.
- Sambrook J and Russell WD. *Molecular cloning a laboratory manual* Vol.1. 3rd ed. Cold Spring Harbor New York. Estados Unidos, 2001:6.61-6.62.
- Tully JG, Clyde, Senterfit. *Mycoplasma Techniques course: Preparation of Mycoplasma antisera*. Bordeaux: International Organization for Mycoplasmaology (IOM). 1983.
- J.O Ikheloa, A. T. P. Ajuwape, and A. I. Adetosoye, "Biochemical characterization and serological identification of mycoplasmas isolated from pneumonic lungs of goats slaughtered in abattoirs in Northern Nigeria," *Small Ruminant Research*, vol.52, no. 1-2, pp. 93–97, 2004
- Vijay Kumar, Rajneesh Rana, Somya Mehra, and Pramod Kumar Rout. Isolation and Characterization of *Mycoplasma mycoides* Subspecies *capri* from Milk of Natural Goat Mastitis Cases. Hindawi Publishing Corporation ISRN Veterinary Science Volume 2013, Article ID 593029, 5 pages.
- Whitford HW, Rosenbusch RF, Lauerman LH. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis*. 1a ed. Iowa (USA): Iowa State University Press, 1994.

***Mycoplasma mycoides* subsp *capri* ISOLATES FROM HEALTHY AND DISEASED GOATS: PREVALENCE AND TYPING**

SUMMARY

A total of 707 goats were sampled for milk and nasal swabs from two different goat herds. In this study a total of *Mycoplasma* cluster *mycoides* was isolated from 29 (4%) goats with or without clinical signs of micoplasmosis. The isolates were further characterized by biochemical and species-specific PCR methods by 16S amplified rDNA. The species demonstrated were *Mmc* recovered a total of 31 isolates. The study concluded that *Mmc* may be an etiological agent of mycoplasmal mastitis and respiratory infections in the regions goat herds in México.

Key words: *Mycoplasma mycoides*, mastitis, pneumonia, PCR.

EVALUACIÓN DE UNA PCR DÚPLEX PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA AGALAXIA CONTAGIOSA EN GANADO CAPRINO LECHERO

CARDOSO-TOSET, F.^{1,2}; GÓMEZ-GASCÓN, L.¹; CAÑETE-BUENESTADO, M.²; ESNAL, A.³; ANDRADE, D.⁴; ASTORGA-MÁRQUEZ, R.J.¹ y GÓMEZ-LAGUNA, J.²

¹ Departamento de Sanidad Animal. Universidad de Córdoba. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario 'CeIA3' Campus Universitario de Rabanales, 14071 Córdoba.

² CICAP, 14400 Pozoblanco, Córdoba.

³ Analítica Veterinaria, 48100 Munguía, Vizcaya.

⁴ CABRAMA, 29160 Casabermeja, Málaga.

RESUMEN

El éxito en el diagnóstico microbiológico de la agalaxia contagiosa de los pequeños rumiantes está condicionado por distintos factores, incluyendo la necesidad de aplicar medidas específicas de cultivo y la conservación de las muestras analizadas. El empleo de técnicas moleculares supone una alternativa eficaz para obtener herramientas diagnósticas rápidas y sensibles. En este trabajo se evalúa el empleo de una PCR dúplex para la detección e identificación de *Mycoplasma agalactiae* y el grupo *Mycoplasma mycoides* a partir de muestras de leche en ganado caprino lechero. Para lograr este objetivo, muestras de leche cruda de cabra inoculadas con dichos agentes fueron analizadas mediante PCR dúplex y cultivo microbiológico. El límite de detección de la técnica fue de 10^3 ufc/ml y 10^5 ufc/ml para *M. agalactiae* y el grupo *M. mycoides* respectivamente. Así mismo, esta PCR fue evaluada sobre 12 muestras de leche de rebaños positivos a agalaxia contagiosa, detectándose la participación de micoplasmas en las 12 muestras mediante PCR dúplex mientras que sólo pudieron aislarse por cultivo microbiológico en 6 de las 12 muestras analizadas.

Palabras clave: agalaxia contagiosa, PCR dúplex, ganado caprino lechero.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico microbiológico de la agalaxia contagiosa de los pequeños rumiantes requiere del uso de medios de cultivo enriquecidos y condiciones específicas de incubación (OIE., 2004). Además, el estado de conservación de la muestra es clave para lograr un aislamiento efectivo del agente (Gómez-Martin y cols., 2013). Es por ello que en muchas ocasiones es preferible recurrir al uso de técnicas moleculares para obtener un diagnóstico rápido y sensible de la enfermedad (Amores y cols., 2010). Así, mediante el uso de técnicas como la PCR es posible identificar no sólo el género (*Mycoplasma* spp), si no también hacer una identificación de la especie implicada. Esta información es especialmente valiosa en el ganado caprino, donde las infecciones mixtas y la presencia de micoplasmas no patógenos es frecuente (Gómez-Martin y cols., 2013). Además, conocer la especie implicada puede ser importante desde el punto de vista epidemiológico, así como para establecer medidas de control específicas (Gómez-Martin y cols., 2013).

En este trabajo se evalúa el empleo de una PCR dúplex para la detección e identificación simultánea de las principales especies que causan agalaxia contagiosa en caprino lechero (*M. agalactiae* y el grupo *M. mycoides*, que agrupa a *M. mycoides subsp. capri* y *M. capricolum subsp. capricolum*) a partir de muestras de leche.

Este trabajo forma parte de las actividades llevadas a cabo en el proyecto CAPRITEC “Tecnologías para la Optimización de la Sanidad, Producción y Productos de la Leche de Cabra en Andalucía” Convocatoria FEDER-INNTERCONNECTA 2013; EXP 00064956/ITC-20131070). El objetivo específico de esta actividad es el desarrollo de nuevas herramientas tecnológicas aplicables a la ganadería caprina.

MATERIAL Y MÉTODOS

En un primer análisis se tomaron muestras de leche de tanque de nueve explotaciones con sospecha de circulación de micoplasmas. Estas muestras fueron analizadas mediante diagnóstico microbiológico (OIE., 2004) y PCR especie-específica para la detección de *M. agalactiae* y especies del grupo *M. mycoides* (Becker y cols., 2012; Tatay-Dualde y cols., 2014).

Una cepa de cada una de las especies evaluadas fue incubada a 37°C en medio selectivo y una atmósfera enriquecida con un 5% de CO₂ hasta lograr un crecimiento adecuado (OIE., 2004). Una sección de 1x1cm de éste se incubó durante 24 horas en caldo selectivo con suplemento (Mycoplasma broth base, Oxoid) bajo las mismas condiciones. Cien

microlitros de la suspensión obtenida se transfirieron a 5 ml del mismo medio y se incubaron bajo las mismas condiciones, alcanzándose un recuento de 10^8 ufc/ml y 10^5 ufc/ml para *M. mycoides* y *M. agalactiae* respectivamente. A partir de estos inóculos, se realizaron diluciones seriadas (1/10) en agua de peptona que fueron adicionadas en alícuotas de leche cruda de cabra negativa a ambos patógenos.

Un ml de cada alícuota de leche inoculada fue sometido a tres lavados sucesivos con PBS estéril, tras lo cual se realizó una extracción de ADN empleando un kit comercial (NucleoSpin® Tissue). El ADN extraído fue analizado por PCR dúplex a punto final combinando primers previamente publicados (Tola y cols., 1997; Becker y cols., 2012) y siguiendo el protocolo de amplificación descrito por Tola y cols. (1997).

Del mismo modo, 100 microlitros de cada alícuota fueron sembrados en agar selectivo para valorar la concentración del agente en cada muestra inoculada. Estos análisis se realizaron por duplicado añadiendo controles positivos y negativos en cada ensayo.

Por último, la dúplex PCR fue evaluada frente a una batería de 12 muestras de leche de casos clínicos de agalaxia contagiosa en caprino lechero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del análisis inicial se obtuvieron muestras de leche negativas a ambos agentes (n=6) así como muestras de leche positivas y aislamientos de *M. agalactiae* (n=2) y grupo *M. mycoides* (n=1) para realizar los siguientes análisis.

El límite de detección obtenido para *M. agalactiae* aplicando la PCR dúplex evaluada en este estudio fue ligeramente superior al obtenido en estudios previos, donde dicho límite fue establecido en 10^2 - 10^3 ufc/ml empleando el análisis por PCR convencional en muestras de leche inoculada (Becker y cols., 2012; Tatay-Dualde y cols., 2014). No obstante, cabe señalar que en estos estudios se constató una sensibilidad muy reducida cuando la concentración del patógeno fue menor a 10^5 ufc/ml (Tatay-Dualde y cols., 2014).

Sin embargo, cuando se evaluó el grupo *M. mycoides* en muestras de leche inoculada, el límite de detección de la técnica fue considerablemente más elevado (10^5 ufc/ml) al constatado por Becker *et al.*, (2012) empleando la PCR en tiempo real, donde se obtuvieron resultados positivos en muestras de leche inoculadas con 350 ufc/ml.

Los resultados obtenidos tras el empleo de la PCR dúplex sobre muestras de leche de rebaños positivos a agalaxia contagiosa cuando fueron

comparados con el cultivo microbiológico se muestran en la tabla 1. Estos resultados fueron muy favorables, detectándose los microorganismos analizados en 6 muestras de leche negativas al cultivo microbiológico convencional.

Tabla 1. resultados obtenidos mediante cultivo microbiológico y PCR dúplex sobre muestras de leche procedentes de rebaños positivos a agalaxia contagiosa.

Muestra	Cultivo e identificación por PCR	PCR dúplex
AVL1	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
AVL2	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
AVL3	<i>M. agalactiae</i> - 10 ⁵ ufc/ml	<i>M. agalactiae</i>
AVL4	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
AVL5	<i>M. agalactiae</i> - 10 ³ ufc/ml	<i>M. agalactiae</i>
AVL6	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
AVL7	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
AVL8	Negativo	<i>M. agalactiae</i>
J-11	<i>M. agalactiae</i> - Presencia	<i>M. agalactiae</i>
CB5	<i>M. agalactiae</i> - Presencia	<i>M. agalactiae</i>
CB16	<i>M. agalactiae</i> - Presencia	<i>M. agalactiae</i>
CB8	<i>M. myoides</i> - Presencia	<i>M. myoides</i>

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que la PCR dúplex ensayada supone una herramienta adecuada para obtener un diagnóstico rápido de las principales especies que producen la agalaxia contagiosa en ganado caprino lechero (*M. agalactiae* y grupo *M. myoides*). No obstante, futuros estudios incluyendo un mayor número de muestras deben ir encaminados a mejorar los límites de detección de la técnica, especialmente para el grupo *M. myoides*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de las actividades llevadas a cabo en el proyecto CAPRITEC “Tecnologías para la Optimización de la Sanidad, Producción y Productos de la Leche de Cabra en Andalucía” (Convocatoria FEDER-INNTERCONECTA 2013; EXP 00064956/ITC-20131070).

BIBLIOGRAFÍA

- Amores, J., Corrales, J.C., Gómez-Martín, A., Sánchez, A., Contreras, A., De la Fe, C. (2010). Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides subs. capri* in ear swabs taken from goats. *Veterinary Microbiology*, 140, 105-108.
- Becker, C.A.M., Ramos, F., Sellal, E., Moine, S., Poumarat, F., Tardy, F. (2012). Development of a multiplex real-time PCR for contagious agalactia diagnosis in small ruminants. *Journal of Microbiological Methods*, 90, 73-79.
- Gómez-Martin, A., Amores, J., Paterna, A., De la Fe, C. (2013). Contagious agalactia due to *Mycoplasma* spp. in small dairy ruminants: Epidemiology and prospects for diagnosis and control. *The veterinary Journal*, 198, 48-56.
- OIE. (2004). Capítulo 2.4.3. Agalaxia contagiosa. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004, 653-660.
- Tatay-Dualde y cols., (2014). Límites de detección de protocolos de PCR para el diagnóstico de *Mycoplasma agalactiae* en muestras de leche de cabra. *Laboratorio Veterinario Avedila*, 66,2-6.
- Tola, S., Angioi, A., Rocchigiani, A.M., Idini, G., Manunta, D., Galleri, G., Leori, G. (1997). Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 54, 17-22.

EVALUATION OF A DUPLEX PCR FOR DIAGNOSIS OF CONTAGIOUS AGALACTIA IN DAIRY GOATS

SUMMARY

Success in microbiological diagnosis of contagious agalactia of small ruminants is conditioned by several factors, including specific culture conditions and sample preservation. The use of molecular diagnostic techniques is a rapid and sensitive alternative for diagnosis of this disease from milk samples. In this work, a duplex PCR to detect and identify *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* cluster from milk samples was evaluated. To achieve this goal, raw milk samples were inoculated with these microorganisms and were analyzed by means of duplex PCR and microbiological culture. Detection limits of duplex PCR were 10^3 cfu/ml and 10^5 cfu/ml for *M. agalactiae* and *M. mycoides* cluster respectively. Duplex PCR was evaluated in 12 clinical samples of contagious agalactia with all samples yielding positive results to the PCR whereas only 6 out of the 12 samples resulted in microbiological identification of the microorganisms under study.

Key words: Contagious agalactia; duplex PCR; dairy goats.

VACUNACIÓN FRENTE A PARATUBERCULOSIS EN UN REBAÑO CAPRINO A DIFERENTES EDADES. ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE PERIFÉRICA

ROYO, M.; FUERTES, M.; FERNANDEZ, M.; CASTAÑO, P.;
MANGA-GONZÁLEZ, Y.; FERRERAS, M.C.; BENAVIDES, J. y PÉREZ, V.
Dpt. de Sanidad Animal. Instituto de Ganadería de Montaña
(CSIC-Universidad de León), Finca Marzanas, Grulleros 24346, León.

RESUMEN

Se ha llevado a cabo la vacunación frente a paratuberculosis en tres grupos de animales de edades diferentes (1,5 meses, 5 meses y adultos) en un rebaño caprino lechero, con el objetivo de conocer la respuesta inmune asociada a la vacunación, su efecto sobre la pérdida de animales y la evaluación de la respuesta a la prueba de IFN- γ de distintos antígenos de *M. bovis* en animales vacunados. La vacunación indujo una intensa respuesta inmune periférica celular que fue máxima a los 6 mpv y superior en el grupo vacunado a los 5 meses respecto al resto, e inferior en las cabras adultas. Aunque se ha encontrado reacción frente a la PPD bovina o el antígeno PC-HP de *M. bovis* en los animales vacunados, siempre ha sido inferior a la ofrecida por la PPD aviar o johnina, siendo este último antígeno el que registró los valores más elevados. No se observó reacción asociada al antígeno PC-EC en los animales inmunizados, lo que sugiere su utilidad en la diferenciación con la infección tuberculosa. El número de bajas fue, en todos los grupos, significativamente superior en los no vacunados, lo que podría indicar un efecto beneficioso general de la vacunación frente a paratuberculosis.

Palabras clave: paratuberculosis, vacunación, test del IFN- γ , caprino de leche.

INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis es una enfermedad bacteriana crónica que afecta tanto a los rumiantes domésticos como a salvajes, causada por *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis* (*Map*). Produce una enteritis granulomatosa asociada a una pérdida de peso progresiva, diarrea y en algunas ocasiones, la muerte. Es una enfermedad extendida en todo el mundo que causa importantes pérdidas económicas y de bienestar animal. No existen tratamientos efectivos, por lo que las principales estrategias de control son: la identificación y eliminación de animales infectados y sobre todo la vacunación. Este último procedimiento se sabe que es efectivo en el control de la enfermedad clínica, incluso cuando se vacunan animales adultos (Juste y Pérez, 2011), pero no evita la infección. Hasta el momento, se desconoce cuál es el mecanismo de acción de la vacuna. Además, su principal inconveniente son las reacciones cruzadas que ocasiona en las pruebas de diagnóstico de la tuberculosis (Juste y Pérez, 2011), por lo que su empleo en la especie caprina y bovina está restringido.

El objetivo de este estudio es evaluar la respuesta inmune asociada a la vacunación según la edad de los animales en el momento de la inmunización, valorar antígenos que permitan la diferenciación de animales vacunados de paratuberculosis de la infección tuberculosa y conocer los efectos de la vacunación sobre las bajas en el rebaño.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una explotación lechera caprina de 198 animales adultos, en régimen intensivo, de la raza murciano granadina situada en la provincia de Valladolid. Está libre de tuberculosis pero se habían diagnosticado casos clínicos de paratuberculosis. La experiencia se llevó a cabo en tres grupos de animales, distribuidos según la edad en el momento de la vacunación: cabritas de 1,5 meses de edad (n=35); cabras de 5 meses de edad (n=82) y cabras adultas mayores de 1,5 años (n=82) animales. En enero de 2014, la mitad de los animales de cada grupo se vacunó con una dosis única de la vacuna inactivada de GUDAIR® (Farco), quedando el resto como grupo control.

La respuesta inmune periférica se valoró en muestras de sangre completa y suero que fueron tomadas cada 3 meses, a lo largo de un año. La respuesta inmunitaria celular se evaluó mediante la técnica del liberación del IFN- γ , en la cual las muestras de sangre heparinizada se incubaron con PPD aviar y bovina (CZ Veterinaria), johnina (Neiker) y los antígenos PC-EC y PC-HP de *M. bovis* (Prionics). Tras la estimulación

durante 22 horas, la producción de esta citoquina se valoró mediante el kit comercial Bovigam[®] (Prionics). La respuesta inmune humoral se estudió empleando un ELISA indirecto de elaboración propia, utilizando el antígeno protoplasmático PPA-3 de *Map* (Allied Monitor). Además, se llevó a cabo el registro de todos los animales que causaron baja en los grupos controlados, independientemente de la causa, durante el año de estudio. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante las pruebas t de Student para comparación de medias, y chi-cuadrado en los datos tipo frecuencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra la producción de IFN- γ tras la estimulación con PPD aviar a lo largo del experimento. A los 3 meses post-vacunación (mpv) se observan ya diferencias significativas en todos los grupos vacunados respecto a sus controles. Los niveles máximos de producción de esta citoquina se encuentran a los 6 mpv, existiendo diferencias entre grupos, de forma que los valores más elevados aparecen en el grupo de 5 meses, seguido por los de 1,5 meses y los adultos. A partir de este momento, se produce un descenso en todos los grupos. En cuanto a la PPD bovina, aunque a los 3 mpv ya se observan niveles más elevados de IFN- γ en los animales vacunados, es los 6 mpv cuando dichas diferencias son más significativas (Fig. 2). En todos los casos los índices obtenidos fueron inferiores a los hallados con la PPD aviar (Figs 1, 2). En cuanto a las diferencias entre grupos, se observa un patrón similar, si bien en este caso las diferencias entre los animales jóvenes (5 y 1,5 meses) con los adultos no fueron significativas. La producción de anticuerpos séricos comenzó de forma más tardía, respecto al IFN- γ , en todos los grupos, observándose diferencias con los animales no vacunados a partir de los 6 mpv, sin encontrarse variaciones significativas entre grupos.

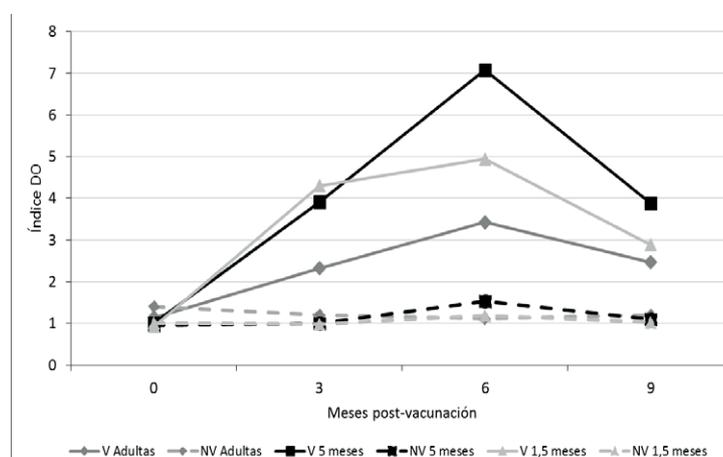


Fig 1. Producción de IFN- γ tras la estimulación de la sangre con PPD aviar, en los distintos grupos a lo largo del estudio.

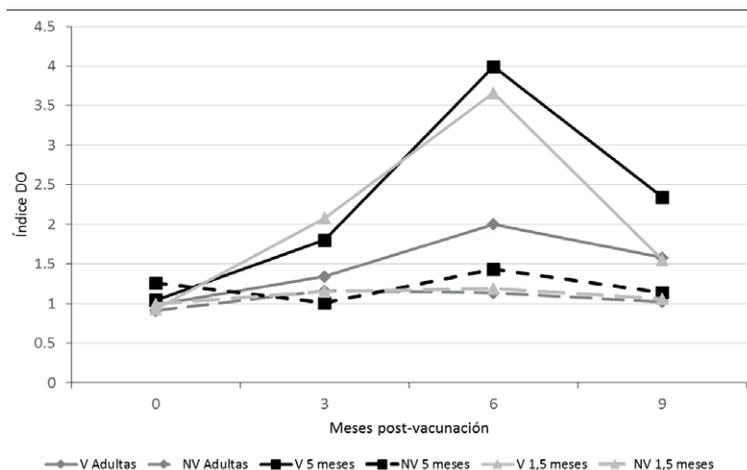


Fig 2. Producción de IFN- γ tras la estimulación de la sangre con PPD bovina, en los distintos grupos a lo largo del estudio.

Estos resultados confirman que la vacunación induce una intensa respuesta inmunitaria periférica específica frente a paratuberculosis, especialmente de tipo celular, que es la que se considera eficaz en el control de la infección (Corpa *et al.*, 2000b; Juste y Pérez, 2011). Sin embargo, hay estudios que indican que este parámetro no puede ser tomado como un indicador de eficacia vacunal (de Silva *et al.*, 2015), ya que se han observado fallos vacunales en animales con intensa respuesta inmune celular periférica, lo que sugiere que serían otros factores los que intervienen en el mecanismo de acción de la vacuna. En estudios previos se había comprobado que la respuesta inmune era más intensa en animales de reposición que en los de 1 mes (Corpa *et al.*, 2000b), como en este estudio; sin embargo, es de destacar la menor respuesta encontrada en animales adultos. A diferencia de estos resultados, en otro estudio donde se infectaron con *Map* por vía oral ovejas adultas, en ellas la respuesta inmune fue más rápida e intensa que en corderos infectados (Delgado *et al.*, 2012). Estos hallazgos sugieren que los mecanismos que modulan la respuesta del individuo frente a la infección oral con *Map* vivos o a la inoculación subcutánea de bacilos muertos serían diferentes.

En el muestreo realizado a los 9 mpv se valoró la producción de IFN- γ tras la incubación de la sangre con diferentes antígenos, observándose que los niveles más elevados de esta citoquina se encontraron frente a la johnina, probablemente por ser el antígeno obtenido directamente de *Map*. Además, en todos los grupos la respuesta a la PPD bovina fue siempre inferior a la aviar, lo que confirmaría la utilidad de la intradermorreacción comparada para la diferenciación de animales vacunados. En cuanto a los antígenos de *M. bovis* EC y HP, eficaces en el diagnóstico de tuberculosis, no se observó reacción positiva en ningún caso con el antígeno EC mientras que con el HP solo apareció en los individuos vacunados del grupo de adultos. Estos resultados, aún

preliminares, indican que dichos antígenos podrían ser de utilidad en la diferenciación de animales vacunados frente a paratuberculosis de los infectados de tuberculosis, como ya se ha sugerido en un trabajo experimental (Pérez de Val *et al.*, 2012).

En la figura 5 se muestra el porcentaje de bajas de animales, producidas por cualquier causa, en los distintos grupos experimentales durante el estudio, que fue siempre significativamente mayor en los grupos no vacunados, en todas las edades. La mayor parte de bajas se debieron a otros procesos infecto-contagiosos. Ya que la paratuberculosis afecta únicamente a animales adultos, estos resultados podrían indicar que la vacunación llevada a cabo en estos animales tendría un efecto protector general frente a otras enfermedades. En este sentido, Pérez de Val *et al.* (2012) encuentran que la vacunación frente a paratuberculosis protegería en cierta medida frente a la infección tuberculosa. Otros estudios también han señalado que la vacunación frente a tuberculosis humana tiene efectos beneficiosos frente a otras enfermedades (Aaby y Benn, 2012).

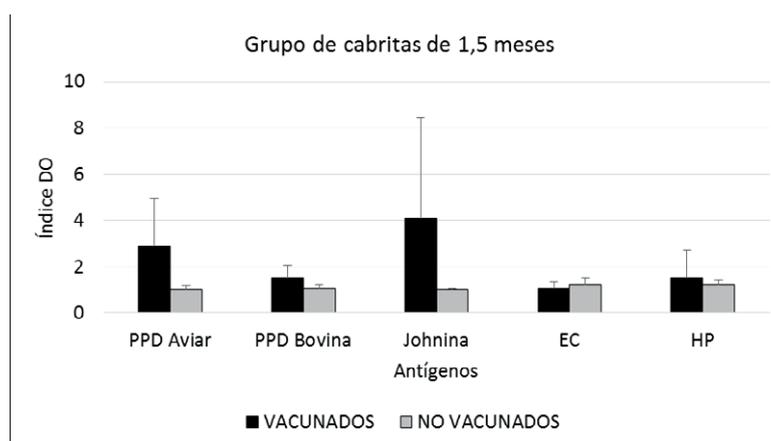


Fig 3. Producción de IFN- γ tras la estimulación de la sangre con diferentes antígenos para el diagnóstico de paratuberculosis y tuberculosis en los animales vacunados con 1,5 meses, a los 9 mpv.

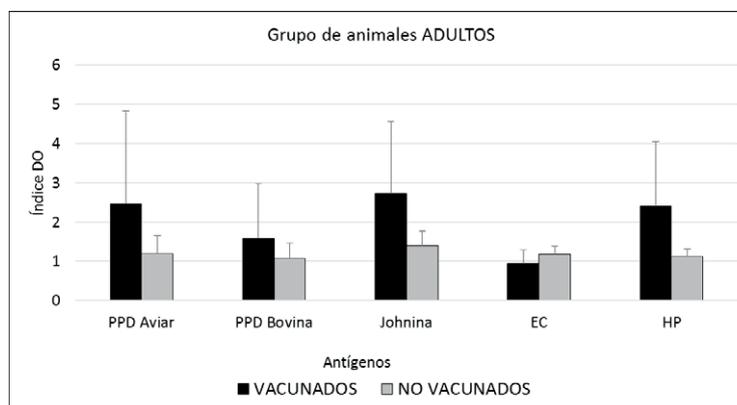


Fig 4. Producción de IFN- γ tras la estimulación de la sangre con diferentes antígenos para el diagnóstico de paratuberculosis y tuberculosis en los animales adultos vacunados, a los 9 mpv.

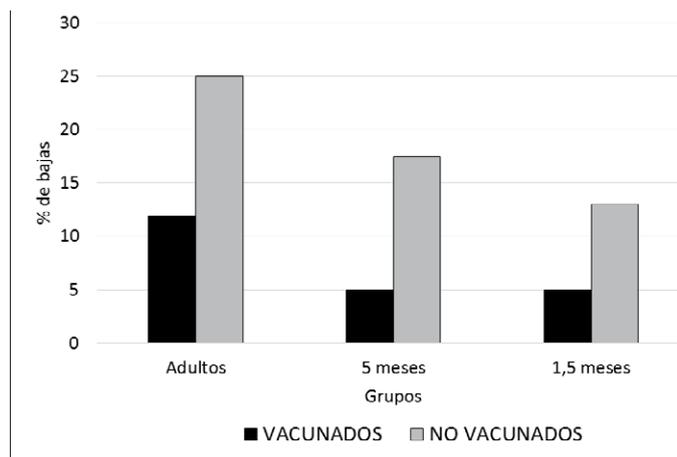


Fig 5. Porcentaje de bajas de animales en el periodo de estudio, en los distintos grupos.

CONCLUSIONES

La vacunación frente a paratuberculosis en cabras de diferentes edades induce una respuesta celular periférica, evaluada mediante la producción de IFN- γ frente a la PPD aviar, más intensa en animales vacunados en edades tempranas (1,5 o 5 meses) que en adultos. Dicha respuesta es máxima a los 6 mpv y varía según el antígeno micobacteriano empleado, siendo superior cuando se emplea johnina. La reacción de los animales inmunizados es siempre menor cuando se emplean antígenos de *M. bovis* e incluso no existe con el preparado antigénico PC-EC, que podría ser empleado con éxito en la diferenciación de individuos vacunados frente a paratuberculosis de los infectados por tuberculosis.

Se ha observado una reducción significativa en el número de bajas, por cualquier causa, en el grupo de individuos vacunados, en todas las edades, lo que sugiere que la vacunación frente a paratuberculosis podría tener un efecto beneficioso de protección colateral frente a otras enfermedades distintas de las causadas por micobacterias.

AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por el proyecto AGL-2012-39818 (MINECO).

BIBLIOGRAFÍA

Aaby P, Benn CS. 2012. Saving lives by training innate immunity with bacille Calmette-Guérin vaccine. *PNAS* 109: 17317-17318.

- Delgado L, Juste RA, Muñoz M *et al.* 2012. Differences in the peripheral immune response between lambs and adult ewes experimentally infected with *Map*. *Vet Immunol Immunopathol* 145: 23-31.
- Corpa JM, Pérez V, García Marín JF. 2000B. Differences in the immune responses in lambs and kids vaccinated against paratuberculosis, according to the age of vaccination. *Vet Microbiol* 77: 475-485
- De Silva K, Plain Km, Begg DJ, *et al.* 2015. CD4T cells, $\gamma\delta$ T cells and B cells are associated with lack of vaccine protection in *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* infection. *Vaccine* 33: 149-155.
- Juste RA, Pérez V. 2001. Control of paratuberculosis in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 27:127-138.
- Pérez de Val B, Nofrarias M, López-Soria S, Garrido JM *t al.* 2012. Effects of vaccination against paratuberculosis on tuberculosis in goats: diagnostic interferences and cross protection. *BMC Vet Res* 8: 191.

VACCINATION AGAINST PARATUBERCULOSIS IN A GOAT FLOCK AT DIFFERENT AGES. ASSESSMENT OF THE PERIPHERAL IMMUNE RESPONSE

SUMMARY

Vaccination against paratuberculosis has been performed in three groups of animals (1,5 month-old, 5 month-old and adults) from a dairy goat flock. The objective was to assess the peripheral immune response related to vaccination, its effect on the animal losses and the measurement of the IFN- γ response against different antigens from *M. bovis* in vaccinated animals. Vaccination induced an intense cellular peripheral immune response that reached the highest level at 6 mpv. It was higher in the 5-month-old group than in the rest, and showed the lowest values in the adult group. Although vaccinated animals reacted against bovine PPD and PC-HP *M. bovis* antigens, the response was more intense to avian PPD or johnin; the latter showed the highest values. No reaction was detected against PC-ED antigen, suggesting its usefulness in the differentiation of *Map* vaccinated and tuberculosis-infected animals. The percentage of losses was lower in vaccinated groups, regardless the age. This fact would indicate that paratuberculosis vaccination could have a general beneficial effect.

Key words: paratuberculosis, vaccination, IFN- γ test, dairy goats.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *Toxoplasma gondii* EN EL PRIMER, SEGUNDO Y ÚLTIMO TERCIO DE GESTACIÓN EN OVEJAS. RESPUESTA LESIONAL Y DISTRIBUCIÓN DEL PARÁSITO

CASTAÑO, P.¹; FUERTES, M.¹; REGIDOR-CERRILLO, J.²;
GONZÁLEZ-LANZA, C.¹; MORENO-GONZALO, J.²; FERRE, I.²;
FERNÁNDEZ, M.¹; FERRERAS, M.C.¹; KATZER, F.³;
ORTEGA-MORA, L.M.²; PÉREZ, V.¹ y BENAVIDES, J.¹

¹Dpto. de Sanidad Animal, Instituto de Ganadería de Montaña. Fac. de Veterinaria. (CSIC-Universidad de León). 24346 Grulleros, León.

²SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Univ. Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n 28040-Madrid.

³Moredun Research Institute, Pentlands Science Park, Bush Loan, Edimburgo, EH26 0PZ, Reino Unido.

RESUMEN

Aunque existe una clara relación entre el estado de gestación y el riesgo de muerte fetal en la toxoplasmosis ovina, los mecanismos implicados en este proceso aún se desconocen. Con el fin de investigar los mismos, se infectaron 36 ovejas gestantes (12 animales por grupo), provenientes del mismo rebaño y lote, en los días 40 (G1), 90 (G2) y 120 (G3) de gestación mediante inoculación oral de ooquites esporulados del aislado M4 de *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). En cada grupo, se sacrificaron 4 animales en la segunda, tercera y cuarta semana post infección (pi). No se observaron diferencias significativas entre los grupos en la evolución de la temperatura rectal o la respuesta serológica. En el G1, el ADN del parásito y las lesiones histológicas fueron identificadas tanto en los placentomas como en las vísceras fetales únicamente en la semana 4 pi. En el grupo 2, el ADN del parásito se encontró en las mismas localizaciones desde la semana 3 pi, identificándose en un número mayor de muestras en la semana 4 pi, momento en el que también se observaron lesiones histológicas, siendo éstas las de mayor gravedad en todo el experimento. En el G3, tanto el ADN parasitario como las lesiones se encontraron en ambas localizaciones desde la semana 3 pi.

En esta semana, tres animales de este grupo abortaron, siendo la carga parasitaria identificada en las vísceras fetales menor que en los otros dos grupos. Estos resultados sugieren que el momento de gestación en el que se produce la infección influye en la propagación del parásito en los tejidos fetal y materno y en el consecuente desarrollo de lesiones histológicas, determinando de este modo las consecuencias clínicas de la toxoplasmosis ovina.

Palabras clave: Aborto. *Toxoplasma gondii*. Respuesta inmune. Curso clínico. Lesiones.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis ovina es una importante enfermedad parasitaria asociada a fallo reproductivo en el ganado ovino, donde ocasiona importantes pérdidas económicas, al causar infertilidad, abortos y muerte perinatal. Se trata además de una importante zoonosis, motivo de preocupación en el ámbito de la Salud Pública. La enfermedad está causada por el protozoo *Toxoplasma gondii* y las consecuencias de la infección dependerán del momento de gestación en el que ésta se produzca. La transmisión al feto, y el mayor riesgo de que se produzca aborto, ocurre cuando las ovejas gestantes se infectan por primera vez (primoinfección), y se ha comprobado que, tras sucesivas infecciones, no existe riesgo de aborto en las madres gestantes. Dependiendo del momento de gestación en el que se produzca, la primoinfección podrá ocasionar la muerte fetal y el aborto (primera mitad de gestación), o bien la transmisión del parásito al feto y el nacimiento de corderos infectados (segunda mitad de gestación). A pesar de la importancia de esta enfermedad y las graves consecuencias que ocasiona, tanto en ovinos como en humanos, aún se desconocen gran parte de los mecanismos que regulan la infección transplacentaria y causan el aborto (Dubey, 2008). La mayoría de los estudios realizados hasta el momento se basan en infecciones experimentales de animales de laboratorio, principalmente ratón, y asumen que durante la gestación existe una modulación de la respuesta inmune materna. Sin embargo, debido a diversas diferencias interespecíficas en la gestación y en la respuesta inmune, estos resultados no siempre pueden extrapolarse a otras especies, como la ovina o la humana, donde existen muy pocos trabajos que aborden este aspecto de la enfermedad (Tait y Hunter, 2009). La finalidad de este trabajo es analizar la dinámica de la infección (distribución y multiplicación del parásito en los tejidos), la evolución de la respuesta lesional en ovejas cuando se produce la primoinfección por *Toxoplasma gondii* y la influencia del estado de gestación en esta respuesta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 ovejas de raza Churra de 20 meses de edad nacidas dentro del mismo lote. Las ovejas fueron sincronizadas y cubiertas mediante monta natural. Los animales se distribuyeron al azar en tres grupos experimentales (G1, G2 y G3), cada uno de los cuales estaba compuesto por 12 ovejas: 9 infectadas y 3 testigos. En los días 40 (G1), 90 (G2) y 120 (G3) de gestación, los 9 animales de cada grupo fueron inoculados por vía oral con 50 ooquistes esporulados del aislado M4 de *T. gondii*. Los animales controles fueron sometidos a las mismas condiciones experimentales, inoculándoles únicamente PBS por vía oral y actuaron como grupo testigo. Se registró la temperatura rectal de los animales hasta el día 14 post infección (pi) y se realizó el sacrificio secuencial de 3 animales infectados y 1 control los días 12, 21 y 26 pi. Se tomaron muestras de sangre dos veces por semana hasta el momento del sacrificio con el fin de estudiar la presencia de anticuerpos frente a *T. gondii*.

Tras realizar la necropsia completa y sistemática de todos los animales, se tomaron diversas muestras de la placenta, órganos maternos (encéfalo y nódulos linfáticos uterino y mesentérico) y fetales (encéfalo, hígado, pulmón, corazón y músculo esquelético) que fueron fijadas en formol tamponado y procesadas para su examen histológico e inmunohistoquímico (detección del parásito). A su vez, fragmentos de los mismos placentomas y encéfalo, hígado y pulmón fetales fueron congelados y procesados para la cuantificación del parásito mediante amplificación de ácidos nucleicos (PCR cuantitativa).

Los datos de temperatura rectal y anticuerpos séricos fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de medias, utilizando el procedimiento GENERAL LINEAR MODEL del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc.). La carga parasitaria fue analizada mediante un test no paramétrico Kruskal-Wallis seguido por un test de Dunn para la comparación entre grupos y de un test Mann-Whitney para las comparaciones por pares.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras la infección, en los tres grupos se observó un aumento transitorio de la temperatura rectal entre los días 2 y 12 pi, presentando un pico de temperatura el día 6 pi, no siendo las diferencias observadas entre los 3 grupos estadísticamente significativas. El análisis serológico puso de manifiesto la aparición de anticuerpos específicos frente a *T. gondii* en la segunda semana pi, aumentando progresivamente en los tres

grupos a lo largo del experimento. Estos resultados sugerirían que no existiría una relación directa entre el momento de gestación en que los animales son infectados y las variaciones registradas en su temperatura rectal o en la respuesta humoral específica frente al parásito. Estos resultados son similares a otros estudios experimentales previos en los que, a lo largo de la gestación ovina, no se observaron variaciones de la respuesta inmunitaria periférica humoral ni celular inducidas tras la sensibilización frente a ovoalbúmina (Wattegedera *et al.*, 2008).

Es de destacar la aparición de aborto en los tres grupos del experimento. Éstos podían dividirse en dos tipos: aquellos que tuvieron lugar durante la segunda semana pi, o fase aguda de la enfermedad, y aquellos que ocurrieron a partir de la tercera semana pi. Los primeros aparecieron en los tres grupos, pero fueron más frecuentes (n=4) entre aquellos animales infectados en el segundo tercio de la gestación (G2), mientras que los abortos producidos a partir de la tercera semana pi únicamente se observaron en el G3. Si bien ambas clases de abortos están asociados a la infección, se ha sugerido que estarían causados por mecanismos diferentes, ya que en los abortos ocurridos a partir de la tercera semana pi se confirmó la presencia y la multiplicación del parásito en la placenta y los tejidos fetales, y la presencia de lesiones inflamatorias en estas localizaciones, mientras que en aquellos ocurridos en la fase aguda de la enfermedad la presencia del parásito en la placenta o vísceras fetales no es frecuente y las lesiones observadas en estas localizaciones son consecuencia de alteraciones vasculares (Castaño *et al.*, 2014). Las diferencias encontradas demostrarían la existencia de mecanismos subyacentes diferentes en ambos tipos de abortos y que el momento de gestación influye de forma variable sobre éstos.

En los tres grupos se identificó la presencia del parásito, mediante la amplificación de ácidos nucleicos, tanto en muestras de placenta como de vísceras fetales. En los animales del G1, únicamente se detectó en la semana 4 pi, mientras que en los otros dos grupos (G2 y G3), ya se identificó desde la tercera semana pi. A su vez, al comparar estos dos últimos grupos se observan también diferencias: mientras que en el G2 la carga parasitaria es menor en la semana 3 pi que en la semana 4 pi, en el G3 se observa lo contrario, la carga parasitaria disminuye en la semana 4 pi respecto a la semana 3, sobre todo en las vísceras fetales. Estos hallazgos sugerirían que, cuando las infecciones se producen durante el último tercio de gestación, existiría una mayor facilidad para la diseminación del parásito a la placenta y tejidos fetales, posiblemente debido a variaciones en la respuesta del hospedador frente a éste.

De forma similar, el grupo G3 fue el único en el que se encontraron lesiones histológicas en la semana 3 pi, mientras que en la semana 4

pi se encontraron en los tres grupos. Este hallazgo indicaría que existe una mayor capacidad del parásito para inducir lesiones en este periodo, posiblemente ligado a la presencia de una mayor carga parasitaria en la semana 3 pi, en comparación con los otros dos tercios de gestación. Por otro lado, al comparar todas las lesiones observadas en los fetos en la semana 4 pi, son aquellos infectados durante el segundo tercio de gestación (G2), los que presentan lesiones de mayor gravedad, lo que podría ser debido a que el estado de gestación también influye sobre las características de la respuesta inflamatoria desarrollada en el feto. Respecto a las lesiones asociadas a los abortos en la fase aguda de la enfermedad, durante la semana 2 pi, éstas fueron más evidentes en los fetos infectados durante el último tercio de gestación (G3), donde cabe destacar que estas lesiones se caracterizaron por áreas de leucomalacia en el encéfalo, en ausencia de parásito. El que las lesiones más graves asociadas al aborto en la fase aguda se observaran en el G3, mientras que las más graves asociadas a abortos “clásicos” se observaran en el G2 es posiblemente debido a que los mecanismos patogénicos de ambos abortos son diferentes (Castaño *et al.*, 2014) y que el momento de gestación en el que se produzca la infección influye de forma diferente según la patogenia del aborto.

CONCLUSIONES

Las diferencias observadas tanto en la carga parasitaria como en las lesiones histológicas sugiere que el momento de gestación condiciona la distribución y multiplicación del parásito, probablemente por variaciones en la respuesta del hospedador frente a *T. gondii* y su capacidad de control de la infección. La ausencia de variaciones en la respuesta inmune humoral y temperatura rectal estudiadas podría implicar que las variaciones en la respuesta del hospedador se producirían localmente (feto y placenta), sin ser tan evidentes en la respuesta periférica del hospedador.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias los proyectos AGL2011-30205, del Ministerio de Ciencia e Innovación, y LE253U13, de la Junta de Castilla y León.

BIBLIOGRAFÍA

- Castaño P, Fuertes M, Ferre I, *et al.*. 2014. Placental thrombosis in acute phase abortions during experimental *Toxoplasma gondii* infection in sheep. *Vet Res* 45:9.
- Dubey J. 2008. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. *J Eukaryot Microbiol* 55:467-475.
- Tait ED, Hunter CA. 2009. Advances in understanding immunity to *Toxoplasma gondii*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 104: 201-210.
- Wattegedera S, Rocchi M, Sales J, *et al.* 2008. Antigen-specific peripheral immune responses are unaltered during normal pregnancy in sheep. *J Reprod Immunol*. 77:171-178.

Toxoplasma gondii EXPERIMENTAL INFECTION IN PREGNANT SHEEP AT EARLY, MID AND LATE GESTATION. PATHOLOGICAL RESPONSE AND PARASITE DISTRIBUTION

SUMMARY

The relation between gestational age and foetal death risk in ovine toxoplasmosis is already known, but the mechanisms involved are yet not clear, especially in sheep. In order to study these mechanisms, pregnant sheep of the same age and genetic background were orally dosed with 50 oocysts of *T. gondii* (M4 isolate) at days 40 (G1), 90 (G2) and 120 (G3) of gestation. In each group, four animals were culled on the second, third and fourth week post infection (wpi) in order to evaluate parasite distribution and loads and lesions in target organs. There were no significant differences between groups in either rectal temperatures, with a peak temperature at days 6 and 7 pi, or serological maternal antibody kinetics. Parasite DNA and lesions were found in the placentomes and foetal viscera of sheep from G1 only at the fourth wpi. In G2, parasite was found from the third wpi, also in placenta and foetal viscera, increasing both at the fourth week, but lesions were only present at the fourth wpi. These lesions were the most severe found in whole experiment. In G3, parasite DNA but also placental and foetal lesions were found in the third wpi. Three out of four sheep from G3 aborted at this time. At the fourth wpi, parasite burden in G3 foetal viscera was lower than those on G1 and G2. These results suggest that the period of gestation influence the parasite multiplication and development of lesions in the placenta and foetus, and as a consequence the clinical course in ovine toxoplasmosis.

Key words: Abortion, *Toxoplasma gondii*, Immune response, Pathology.

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* IN DAIRY GOATS BY TWO ELISAs

RERKYUSUKE, S. and GANTER, M.

Clinic for Swine and Small Ruminants, Forensic Medicine and Ambulatory Services, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bischofsholer Damm 15, D-30173, Hannover, Germany.

ABSTRACT

The objective was to evaluate two commercial ELISAs for detection of antibody activities against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in goats. Therefore 3 groups of goat sera from one flock including 283 goats vaccinated with Gudair® against paratuberculosis (group 1), 39 goats with clinical paratuberculosis, confirmed by culture and PCR technique (group 2), and 58 motherless reared unvaccinated replacement kids (group 3) were tested with LDL-ELISA and IDEXX-ELISA. In the vaccinated group 1, MAP antibody activities were analysed each year after vaccination for three years by LDL-ELISA. In addition, the patterns of antibody activities over 3 years after vaccination were analysed.

The sensitivity in group 1 was 84%, and 36% in LDL-ELISA and IDEXX-ELISA, respectively. Sensitivity in group 2 was 85% and 56% in LDL-ELISA and IDEXX-ELISA, respectively. The specificity in the MAP negative group 3 was 100%. After vaccination, MAP antibody activities declined significantly the 3 consecutive years with both ELISAs ($p < 0.05$). 84.3% of healthy goats had high antibody activities but 11.8% of them had negative or inconclusive results three years after vaccination with LDL-ELISA.

After Gudair® vaccination a differentiation between MAP infected and uninfected goats is only possible the following two years.

Key words: Goats, ELISAs, Paratuberculosis, Vaccination.

INTRODUCTION

Johne's disease (JD), or paratuberculosis, is a chronic disease affecting gastrointestinal tract. The disease is caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) and may become fatal in small ruminants. In Germany, 65% of small ruminant flocks were sero-positive for paratuberculosis tested in 2009-2010 (Stau *et al.*, 2011). In MAP infected flocks increased morbidity and mortality, reduced reproductive performance, and economic losses are commonly found (Hutchinson, 1996; Kostoulas *et al.*, 2006). Moreover, paratuberculosis is also relevant to animal health and food safety in dairy herds due to the fact that MAP might be associated with Crohn's disease in humans (Singh *et al.*, 2008).

There is a wide range of diagnostic tests for the diagnosis of paratuberculosis. Because of their low sensitivity most of the serological tests are not suitable for diagnosis in individual animals but as herd tests. The disadvantage of ELISAs for diagnosis of MAP infections in small ruminants, is the low sensitivity of most of the tests and the low concordance of different ELISAs. The objective of this study was (1) to compare the efficacy of two commercial ELISAs for detecting antibody activities against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy goats. And (2) to investigate the antibody activity in a dairy goats flock following Gudair® vaccination for up to 3 years with LDL-ELISA. Also the question arose whether it is possible, to discriminate in a Gudair® vaccinated goat herd between MAP infected and uninfected animals.

MATERIALS AND METHODS

Animals: Three groups of animals from one closed flock of German Fawn Goats were evaluated including 283 serum samples of Gudair® vaccinated goats (Gudair®, CZ Veterinaria S.A., P.O. Box 16 E-36400 Porriño (Pontevedra), Spain) in 2013 (group 1) as reported (Stau *et al.*, 2011; Kostoulas *et al.*, 2006) previously, 39 goats with clinical JD. In these animals MAP was detected post mortem by culture and PCR technique (group 2), and 58 motherless reared unvaccinated replacement kids (group 3) which were regarded as MAP negative. In group 1, the vaccine programme started in 2010 for dairy and replacement goats. They were vaccinated at a minimum of 6-8 months of age only once in their life time. Gudair® is used for active immunisation of sheep and goats in order to prevent and reduce the clinical signs, lesions and mortality of paratuberculosis. The goats were tested for MAP antibodies in serum with LDL-ELISA before vaccination, followed by sampling once a year in 2011, 2012 and 2013.

The 39 sera in group 2 derived from goats of the same flock where MAP infection was confirmed by culture and PCR. The youngest five culture positive goats were 17 months old. The other 34 goats were a minimum 18 months, and the eldest 9.5 years old. All animals were born and raised in the farm and were infected by natural conditions. At post mortem all of them showed enlargement of the mesenteric lymph nodes, some with caseation and some also with calcification of the lymph nodes. For evaluation of sensitivity blood samples were taken directly before euthanasia.

Kids in group 3 were weaned from their dams immediately after lambing without having the possibility to suckle colostrums. They were raised in a separate barn by separate personnel. They were fed by MAP negative dairy cow colostrums followed by feeding milk from the same MAP negative cows, or by milk replacers. All goats lived in closed barns. The barns for milking goats were separated to the barn for replacements.

Serological tests: Serum samples from all animals were tested for MAP antibody activities by LDL-ELISA (CATTLETYPE® MAP Ab, QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b, D-04103, Leipzig, Germany) and IDEXX-ELISA (IDEXX Paratuberculosis Screening, IDEXX Laboratories, Inc., Mörikestraße 28/3 D-71636 Ludwigsburg, Germany) using the instructions provided by the manufacturers. The interpretation of the results depends on the commercial test kits. For LDL-ELISA the manufacturer classified S/P ratio of >0.4 = positive, and <0.4 = negative. For IDEXX-ELISA results were classified as follows: S/P (%) > 55 = positive; < 45 = negative; > 45 to <55 = suspect. Suspect samples were retested and if the result was suspect again the goat was regarded as negative.

RESULTS

The sensitivity of LDL-ELISA, and IDEXX-ELISA in Group 1 was 84%, and 36%, respectively. The sensitivity of the LDL-ELISA, and the IDEXX-ELISA in Group 2 was 85%, and 56%, respectively. All serum samples from group 3 were negative for both ELISA tests. Considering these motherless reared kids as really paratuberculosis negative the calculated specificity was 100% for both tests. The highest antibody activity measured in this group had an S/P ratio of 0.21 for LDL-ELISA, and S/P equal of 4.22% for the IDEXX-ELISA.

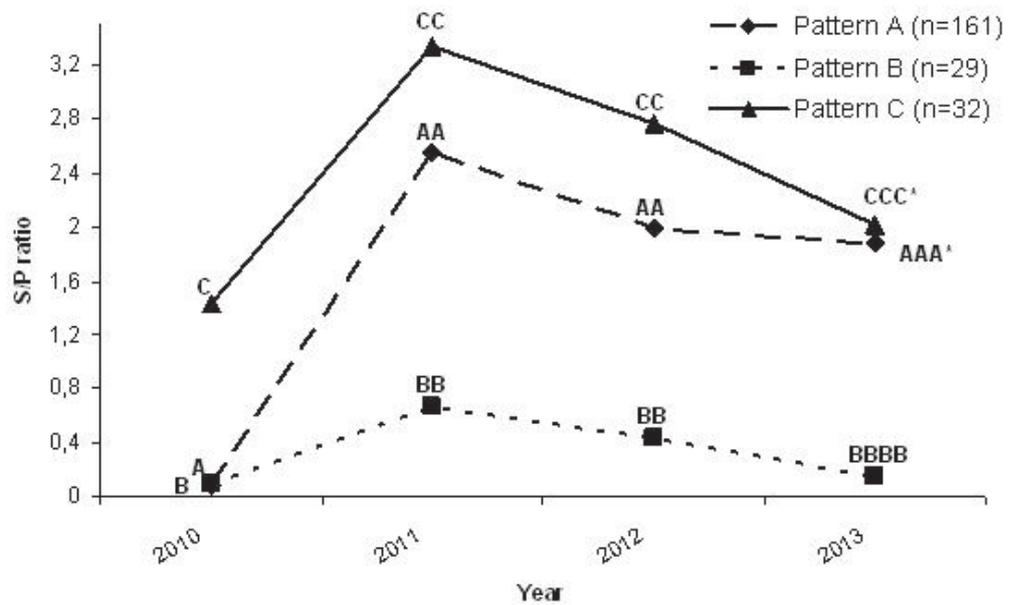
Table 1. Percentage of sero-positive results in two ELISAs in each group of goats.

Group	no. of samples	LDL-ELISA (S/P ratio)				IDEXX-ELISA (S/P%)			
		positive (%)	Mean	Median	95% CI	positive (%)	Mean	Median	95% CI
1	283	84	1.95	2.04	1.81-2.09	36	47.16	40.44	42.59-51.74
2	39	85	2.33	2.14	1.88-2.79	56	72.10	74.20	55.73-88.46
3	58	0	0.02	0.01	0.007-0.026	0	0.29	0.15	0.13-0.45

Group; 1 = Gudair® vaccinated goats, 2 = goats with clinical paratuberculosis, confirmed by culture and PCR technique, 3 = motherless reared unvaccinated replacement kids. S/P ratio=sample to positive ratio. S/P% = sample to positive percentage.

Following the vaccination programme in 2010 – 2013 the immune status against MAP was retested in the vaccinated flock every year with LDL-ELISA. Three patterns of sero-reaction against MAP were found: Pattern A (permanent reactors) included 161 goats which were sero-negative before vaccination and showed high antibody activity for all 3 years after vaccination, Pattern B (short time reactor or non-reactors) included 29 goats which were sero-negative before vaccination and they remained negative for the whole period or sero-conversion declined to negative after vaccination within 1 year, and pattern C (sero-positive before first vaccination in 2010) included 32 goats which were sero-positive before and after vaccination. These goats were infected by MAP under natural conditions. They did not show any clinical signs of Johne’s disease and a good milk yield at the time before vaccination. Therefore the owner did not want these goats to be culled and they were vaccinated and kept in the flock. Data from the three different patterns were not normally distributed and analyzed by Kruskal-Wallis test and Wilcoxon’s two-sample test (SAS, v.9.3, 2010) ($p < 0.05$). Antibody activities against MAP within and between the patterns were analyzed over 3 years using the Signed Rank test (SAS, v.9.3, 2010).

Figure 1. The pattern of sero-conversion ratio after Gudair® vaccination based on LDL-ELISA for 4 years.



^{A, B, C} There were significant differences between the antibody activities of the three patterns within each year ($p < 0.05$) except ^{AAA*} and ^{CCC*} in 2013.

^{A, AA, AAA} There were significant differences in the average MAP antibody activities in pattern A ($p < 0.0001$). The same in pattern B and C.

There was no significant difference between sera of goats from patterns A and C in 2013. There were significant differences between patterns A and B, patterns B and C, as well as between patterns A and C in the first, second, and third year after vaccination, with the exception of patterns A and C in the third year. Nevertheless, the comparison of the whole sero-conversion patterns over the whole period revealed significant differences between pattern A *versus* B, pattern A *versus* C, and pattern B *versus* C ($p < 0.05$).

To answer the question whether it is possible to distinguish between infected vaccinated goats and non infected vaccinated goats all sera from 2013 were tested by LDL-ELISA and by IDEXX-ELISA. The ELISA was compared within the three reaction patterns A to C. In 2013 the mean values of the antibody activities against MAP in patterns A and C exceeded the cut off for the LDL-ELISA, but remained below the cut off of the IDEXX-ELISA. In both ELISAs there were no significant differences between the mean values of pattern A and C three years after Gudair® vaccination.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Both ELISA tests can detect antibodies against MAP in goat flocks. LDL-ELISA is more sensitive in vaccinated goats and goats with clinical JD than IDEXX-ELISA. According to the manufacturer the sensitivity and specificity of IDEXX-ELISA were 64.7%, and 99.2%, respectively (IDEXX, 2011). In LDL-ELISA the sensitivity was 90.2%, and the specificity was 99.3% in bovine serum (LDL, 2013). The Pourquier® ELISA Paratuberculosis (originally Institute Pourquier, Montpellier, France, now IDEXX Laboratories, Inc.) in bovine serum had a sensitivity of 80% and a specificity of 98.0%. In goat flocks free from paratuberculosis, the specificity in serum samples was 100% and LDL-ELISA had a good correlation with Pourquier-ELISA (Gumber *et al.*, 2006).

Due to the slow progression of the MAP infection the actual infection status of individual animals is difficult to diagnose especially in early stages of the infection. On the other hand, in the late stage of the disease with clinical paratuberculosis, the ELISA test is highly sensitive and specific when compared with other stages of the infection. However, according to this study the sensitivity in goats even in late stages of clinical JD is lower than in vaccinated goats. Nonetheless, in this examination some samples were negative in both tests even in goats with clinical JD. This might be due to false negative reactions in the ELISA or due to self-immune anergy of the animal by a failure of the immune system not to respond to MAP. Approx. 10% of the goats did not-react on vaccination by seroconversion. Three of the serologically non-reacting goats showed clinical JD, and MAP infection was confirmed by culture and PCR in intestinal tissue and mesenteric lymph node. Moreover, they were non-reactors over 3 years after vaccination. This advocates that some of the sero-negative animals are not able to react adequately to MAP by humoral antibody production.

The decline in antibody activities against MAP after vaccination in caprines was also reported in the Netherlands (Peterson, 2013). In this study antibody activities against MAP of vaccinated goats declined significantly after vaccination for all patterns. Even though the antibody activities against MAP in vaccinated healthy goats in pattern A were significantly lower than in the infected goats in pattern C one to two years after vaccination, in the third year the antibody activities against MAP were not statistically different in clinically healthy and infected goats. Therefore, it is not accurately possible to discriminate between healthy vaccinated and already infected plus vaccinated goats with the help of the results of MAP ELISA tests.

REFERENCES

- Stau A, Seelig B, Walter D *et al.* Johne's Disease in small ruminants in Germany. *Small Ruminant Res* 2011;105:361-365.
- Kostoulas P, Leontides L, Billinis C *et al.* The association of sub-clinical paratuberculosis with the fertility of Greek dairy ewes and goats varies with parity. *Prev Vet Med* 2006;74:226-238.
- Hutchinson LJ. Economic impact of paratuberculosis. *Vet Clin N AM Food* 1996;12:373-381.
- Singh AV, Singh SV, Makharia GK *et al.* Presence and characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from clinical and suspected cases of Crohn's disease and in the healthy human population in India. *Int J Infect Dis* 2008;12:190-197.
- IDEXX validation data report: 2011, IDEXX Paratuberculosis Screening Ab Test. Accessed 27/02/2015 http://www.idexx.com/pubwebresources/pdf/en_us/livestock-poultry/paratuberculosis-screening-ab-test-sheet.pdf
- LDL validation data report: 2013, Cattletype® MAP Ab, Qiagen Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b, D-04103, Leipzig, Germany
- Gumber S, Eamens G, Whittington RJ. Evaluation of a Pourquier ELISA kit in relation to agar gel immunodiffusion (AGID) test for assessment of the humoral immune response in sheep and goats with and without *Mycobacterium avium paratuberculosis* infection. *Vet Micro* 2006;115:91-101.
- Peterson KL. Gudairvaccinatie en de paratbc ELISA. *Nieuwsbrief Voor Practici Jaargang* 2013;19:1.

ESTABLISHMENT OF A DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THE MAJOR ABORTIVE DISEASES IN SMALL RUMINANTS: FIRST EVALUATION IN MIDI-PYRÉNÉES, IN THE SOUTH OF FRANCE

DE CREMOUX, R.¹; POUGET, C.² and LACZ, C.³

¹Breeding Institute, Small Ruminant Health Management Mixt Technological Unit, France.

²Animal Health Protection Group of Aveyron, France.

³Regional Federation of Animal Health Protection Groups of Midi-Pyrénées, France.

ABSTRACT

In France, a differential diagnosis protocol is currently being proposed in collaboration with professional organizations, for the five main abortive diseases (Q fever, chlamydiosis, toxoplasmosis, salmonellosis and Border disease) observed in small ruminants. It was implemented on a pilot regional scale in the south-west of the country. Submissions were considered when 3 abortions at least occurred in 7 days or less. For this group approach, emphasis was made on direct diagnosis applied to individual or pooled samples depending on pathogens. Serological tests were realized to establish the recent spreading of causative agents. They rested on an increase of the level of the antibody response at 15 days apart (chlamydiosis, toxoplasmosis), on the interpretation of seroagglutination (salmonellosis), or on seroprevalence estimated for either 10 aborted females (Q fever) or 10 sentinel animals (border disease virus). Preliminary results were obtained for 65 abortive outbreaks. The method appeared promising insofar as the elucidation rate of the abortive outbreaks was estimated to 74%. Nevertheless, various points remain to be clarified or assessed: interpretation of antibody response levels, relevance of a semi-quantitative approach for PCR, use of pooled samples. Further studies still need to be conducted to improve and simplify this field protocol.

Key words: Abortion, diagnosis, small ruminants.

INTRODUCTION

In France, monitoring of abortion diseases in ruminants is a priority issue in animal health but the heterogeneity of the diagnostic procedures used for abortions is often highlighted. Consequently, homogeneous differential diagnosis protocols are currently being proposed in collaboration with professional organizations. As far as small ruminants are concerned, a study was initiated in the region of Midi-Pyrénées (south-west of France) in order to apply the national protocol defined for a differential diagnosis of the most common abortive diseases. Its main objectives were to assess the feasibility of this national procedure (including cost optimization), to estimate its relevance through the elucidation rate and to identify organizational, analytical and methodological elements that may need adjustments. Furthermore, this pilot study could provide epidemiological information and help in raising breeders' awareness about the importance of reporting and diagnosing abortions (participation in event-monitoring of brucellosis and other zoonotic diseases of interest such as Q fever). The study, led by the Regional Federation of Animal Health Protection Groups of Midi-Pyrenees was initiated in October 2013 for 2 years. First results are now available.

MATERIAL AND METHODS

According to the french regulation, expulsions of a fetus or stillborn animals or animals succumbing in the first twelve hours, are considered as potentially infectious abortions (exclusion of obviously accidental causes) (Anonymous, 2013). The warning threshold is set at 3 abortions recorded within 7 days or less. Five predominant abortive diseases were integrated in the diagnostic procedure: Q fever, chlamydiosis, toxoplasmosis, salmonellosis by *Salmonella Abortusovis* and Border Disease. The approach was based on a group diagnosis: it was based on a set of analyses conducted for several animals implying the interpretation of a combination of results (de Cremoux *et al.*, 2013). Decision trees were based on some general principles: emphasis on direct diagnosis (molecular or bacteriological analyses depending on the pathogenic agent), complementary use of indirect diagnosis. For Q fever, direct diagnosis was based on the use of real-time qPCR assays applied to vaginal swabs (2 analyses required). The clinical thresholds adopted in France were 10^3 and 10^4 *Coxiella burnetii*/swab for pooled (3 swabs) or individual analyses respectively. For chlamydiosis, direct diagnosis was based on three individual PCR tests while pooled samples (mostly fetal organs and tissues, sometimes membranes) were preferred for toxoplasmosis and Border disease. Finally, a minimum of 2 bacteriological

analyses were required for salmonellosis. Serologic tests were realized in order to establish the recent circulation of causative agents in herds. Depending on the diseases, they rested on an increase in the level of the antibody response at 15 days apart (chlamydiosis, toxoplasmosis), or on the measurement of IgM (seroagglutination method applied to salmonellosis) for 5 dams, or on the establishment of seroprevalence among either 10 aborted females (Q fever) or 10 sentinel animals (border disease virus). This protocol was implemented in voluntary veterinary practices of the whole region.

RESULTS

In 2014, 65 sets of abortions had been recorded. They concerned suckler ewes (23%), dairy sheep (71%) or goats (6%). The average herd size was 365 adults for a hundred renewal females. The submissions occurred after 7.6 ± 4.9 abortions in average (from 1 abortion to up to 20 abortions), showing farmers' good responsiveness. These abortive episodes either concerned young females (40%) or adults. They occurred mostly in the last third of gestation (86.7%), or even during the last month of pregnancy (71.7%) or occasionally in the first two or three months of gestation (10%).

As far as Q fever was concerned, at least one seropositive animal was identified in 52% (N=34) of the 65 herds involved in the study. Bacteria spreading (DNA detected and quantified) was observed in 16.9% of the herds (N=11). For only 3 of them (4.6%), the 2 PCR results proved consistent and above the positive threshold for concluding that Q fever was implicated in the outbreak. Therefore, Q fever was present in nearly 74% (N=48) of the herds studied (detected DNA and/or seropositive animals) showing the enzootic nature of Q fever in France. These results are consistent with those obtained on a broader basis in the department of Aveyron in the same region, in a survey pilot scheme of Q fever: among 239 herds in an abortion outbreak context, only 19 concluded clinically affected by Q fever (7%).

Chlamydia seemed widespread in the region as it was present (detected DNA and/or seropositive animals) in almost 77% of the herds: 74.6% with at least one positive serology (N=47/63), 33.9% with at least one positive PCR (N=21/62) and 21% with at least two positive PCR (N=13). Herds with at least one positive PCR frequently (57.1%, N=12/21) had one (28.6%) or more (28.6%) highly seropositive animals (cutoff depending on the recommendations of the supplier). They were also frequently characterized by the presence of one (35%, N=7/20) or more (20%, N=4/20) animals whose antibody response have increased at 15

days apart. Infections have occurred in vaccinated herds included (live attenuated vaccine). Involved strains were typed for five vaccinated herds with 3 positive PCR, showing the implication of the wild strain of *Chlamydia abortus*. In summary, *Chlamydia* was regarded as the cause of abortions series in 21.5% (N=14) of the herds and was probably implicated in 4.6% (N=3) for a global involvement in 26.2% of the submissions.

Toxoplasma also appeared as enzootic. It was present in 82.8% (N=53/64) of the herds: 82.3% (N=51/62) with at least one positive serology; more than a quarter of the submissions (26.2%, N=16/61) with a positive PCR (pooled fetal organs). In cases of positive PCR, seroprevalence mostly exceeded 50% (93.3%, N=14/15) but no increase in the antibody response was noticed in most of them (69.2%, N=9/13) in relation with high serological responses immediately post-abortion. Meanwhile, high seroprevalence (21.7 %, N=10/44) or increased antibody response (34.2%, N=13/38) were reported despite a negative PCR. Indeed, a negative PCR, can't exclude the involvement of toxoplasmosis due to the heterogeneity of the distribution of the parasite in tissues. Infections have occurred even in vaccinated herds ((live attenuated vaccine). So, toxoplasmosis appeared as one of the main causes of abortions in the region with a global involvement (certain or probable implication) in 51.6% of the submissions (N=33).

No bacteriological analysis was found positive for *Salmonella Abortusovis*. Serological titles were under the dilution threshold of 1/1280 for all analyses except one. In the latter case, the spreading of *Salmonella* was considered as possible. For Border disease, pooled organs were tested positive in PCR in one herd showing the virus implication in the abortive outbreak. The virus spreading was noticed in 7.7% of the herds (N=5/65) on the basis of serological positive results among sentinel females.

So, with a simplified approach based on the research of 5 predominant abortive infections, the global solving rate of abortions outbreaks was estimated to 74 %. Co-infection or co-circulation of infectious agents were reported in more than 30% of the studied herds.

DISCUSSION

The diagnostic scheme was defined as an operational diagnostic approach, suitable for veterinary field exercise. The whole procedure was correctly implemented by more than 70% of veterinarians but a need of more simplification is mentioned by all practitioners. Even in

case of missing samples (lack of some blood samples for example), a diagnosis has often been made.

The results are preliminary and were mostly obtained for ewes (mostly dairy ones), in a regional scale. So, the diagnosis approach cannot be considered as validated. An extrapolation to the whole country does not appear possible given the diversity of epidemiological situations. In the current case, salmonellosis for example was not involved in the abortive outbreaks while it is prevalent in other areas in France.

From an analytical point of view, a complete elucidation of the abortive outbreaks could not be rigorously made as all fetuses and placentas were not exhaustively sampled and analyzed. Furthermore, in some cases, the use of pooled organs (preferred to reduce costs for a future use on the field) might compromise the detection of some pathogens.

For chlamydiosis particularly, it seems relevant to take into account shedding levels in order to differentiate asymptomatic shedding from infections which are associated with a significant colonization of tissues and clinical signs. More generally, the interest of taking into account the Cycle threshold despite the lack of harmonized standards in laboratories (an interlaboratory adoption test for a PCR method has been realized for Q fever only, with the support of the National Reference Laboratory of Sophia-Antipolis, France (Rousset *et al.* 2013)), needs to be discussed. For toxoplasmosis or Border disease, it was assumed that a negative result could not exclude the implication of the agent. This reinforces the point that serological results should be correctly interpreted to confirm the etiologic hypothesis or sometimes to guide the diagnosis.

Interpretation of serological results implies taking into account the antibody response level. In this study, only results which were considered by laboratories as highly positive, were taken into account. The final interpretation was based on the frequency of high antibody responses occurrence: it was considered as relevant if over 50%. This is especially true in case of a vaccination implementation (in the region, renewal animals can be concerned, mostly for chlamydiosis and sometimes for toxoplasmosis). However, even in this way, interpretation of the antibody response for *Toxoplasma* requires to be assessed insofar as immunity is known to remain strong and persistent. Finally, the threshold for establishing that an increase of the antibody response is significant, also needs to be precisely defined through specific studies.

DNA of pathogenic agents has been extracted from fetuses' tissues even in a vaccination context. For chlamydiosis, the results did not support the hypothesis of an implication of the vaccine strain. Besides the fact that the vaccine is only protective for uninfected animals (particularly

problematic for young animals from infected dams that may be already infected), these results show the importance of reviewing the procedures for the implementation of vaccination strategies in herds (vaccine storage, period and vaccination target ...).

CONCLUSION

Although they need to be consolidated, the results already show that a rigorous analysis protocol allows a tangible improvement of the elucidation rate of abortions outbreaks (estimated at 74% for the 65 submissions studied). Joint circulation of several pathogens was observed in many herds. As a consequence of the enzootic nature of chlamydiosis, toxoplasmosis and Q fever, the importance of quantitative or semi-quantitative approaches both for direct (use of qPCR for shedding quantification) and indirect (interpretation of antibody response levels), was highlighted. The frequency of high positive serological results seems interesting to consider to support or confirm the etiologic hypothesis. Likewise, antibodies kinetics appeared relevant for toxoplasmosis despite high antibody responses at the moment of abortion, in several herds. These preliminary results provide possible avenues for further research and field investigations. In particular, second-line abortive diseases should be integrated in the diagnostic procedure.

On the field, interest of an exclusion of some diseases also has been valued by veterinarians to better target the control measures to promote or implement. The study started in Midi-Pyrénées should also identify logistical, critical points of the implementation of a differential diagnosis protocol. This includes the fields of communication and raising livestock professionals' awareness of the importance of continuous monitoring of abortive diseases.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to acknowledge the laboratories, veterinarians, technicians and farmers involved in this study. This work received the financial support of Regional Council and CRSSA (Regional solidarity Fund for Animal Health) of Midi-Pyrénées.

REFERENCES

Anonymous, 2013. Ministerial order of 10 October 2013 establishing the administrative and technical measures to on collective prophylaxis and animal health management related to ovine and caprine brucellosis. Available online : <http://www.legifrance.gouv.fr>.

- de Cremoux R, Corbière F, Nouvel X, Champion JL, Mondoly P, Nouzieres S, Pouget C, Dion F, Touratier A, Berthelot X. 2013. [Harmonized approach for a differential diagnosis of abortions in small ruminants]. Bulletin des GTV- Special Issue. 93-104.
- Rousset E, Prigent M, de Cremoux R, Sidi-Boumedine K. 2013. Validation and adoption of quantitative PCR methods for the diagnosis of Q fever. Med vet net association. International Scientific Conference 2013 “One health, one medicine: sharing challenges for combating zoonoses” 24th - 25th June 2013 Danish Technical University, Lyngby, Denmark.

TUMORES EN GANADO OVINO SACRIFICADO EN MATADERO

PÉREZ-MARTINEZ, C.^{1*}, DOMÍNGUEZ, G.²; GARCÍA-MARÍN, J.F.¹; GAYO, E.¹ y GARCÍA, M.J.¹

¹Histología y Anatomía Patológica. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

²Matadero INCARSA. Burgos.

*cperm@unileon.es

RESUMEN

Se estudió la incidencia de tumores en 726.855 ovinos inspeccionados en un matadero a lo largo de 5 años. Se diagnosticaron un total de 34 neoplasias (0,005%), de los cuales 32 (0,1%) se observaron en animales adultos. La mayoría de ellos (18 casos) fueron carcinomas intestinales. Una elevada incidencia de este tumor ha sido citada también en Australia, siendo más esporádica en otros países. En cuanto al origen del mismo o causas del mismo, se han propuesto la acción de pesticidas y la predisposición genética.

Palabras clave: Ovino, neoplasias, adenocarcinoma intestinal.

INTRODUCCIÓN

Los tumores se diagnostican con baja frecuencia en el ganado ovino, aún así resulta fundamental tanto para el veterinario inspector de matadero como para el clínico realizar su correcta identificación y, sobre todo, establecer el diagnóstico diferencial y su pronóstico. La información disponible es escasa y gran parte de la misma fue obtenida hace bastantes años en países con situaciones epidemiológicas diferentes (Monlux *et al.*, 1957; Misdorp, 1967; Webster, 1967; Anderson *et al.*, 1969). En España, en nuestro conocimiento, no existen datos referentes a este tema, independientemente de la realización de diagnósticos

ocasionales, como el del carcinoma intestinal (Pérez *et al.*, 1999). En este trabajo se planteó el estudio de la incidencia de tumores en ganado ovino sacrificado en matadero, con el objetivo de proporcionar una información actualizada tanto para inspectores de matadero como para veterinarios clínicos de ovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron lesiones sospechosas de ser neoplasias en ganado 726.855 ovinos (n=30.840 >5 años, n=623.967 ≤ 3 meses), durante la inspección rutinaria realizada en un matadero industrial entre octubre de 2009 y diciembre de 2014. Los animales procedían, principalmente, de Castilla y León y, en menor número, de Asturias, Cantabria, Cataluña, Aragón y Galicia, por lo cual los datos obtenidos se pueden considerar como una representación válida del patrón de aparición de neoplasias en animales de abasto en la zona Norte de España. Las muestras recogidas fueron fijadas en formol tamponado al 10% y posteriormente procesadas para su estudio histopatológico detallado y completo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se diagnosticaron un total de 34 tumores (0,005%), dato que coincide con el presentado por Monlux *et al.* (1956) y que es inferior al mostrado por Misdorp *et al.* (1967) que lo eleva al 0,027%, mientras que otros lo rebajan al 0,0024% (Anderson *et al.*, 1969), variabilidad atribuible a diversos factores y al número de individuos examinados en cada caso. El porcentaje se eleva considerablemente cuando dividimos a los animales por grupos de edad. Así, en ovino >5 años el porcentaje de neoplasias fue 0,103%, mientras que en animales de < 3 meses lo fue del 0,0003%. El adenocarcinoma intestinal fue el tumor más frecuentemente diagnosticado en nuestro trabajo (18 casos), seguido a mucha distancia por los tumores primarios en hígado y (n=5) y los linfosarcomas (n=3) (Tabla 1). En ovino ≤3 meses sólo se diagnosticaron dos tumores (Tabla 2).

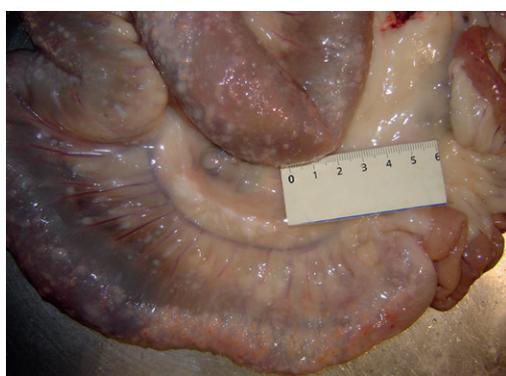
Tabla 1. Tumores diagnosticados en ovino >5 años.

TIPO TUMOR	Nº
Adenocarcinoma intestinal	18
Colangiocarcinoma/Hepatocarcinoma	5
Linfosarcoma	3
Adenomatosis pulmonar ovina	2
Carcinoma de células escamosas	1
Condrosarcoma	1
Feocromocitoma	1
Liposarcoma	1

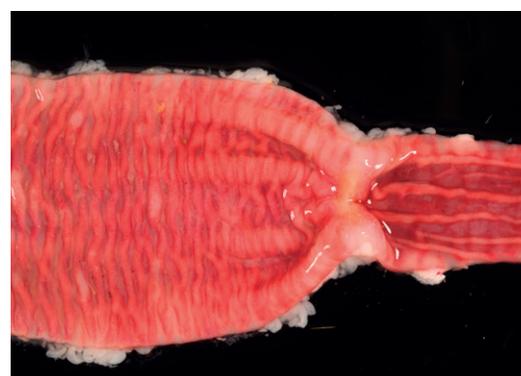
Tabla 2. Tumores diagnosticados en ovino ≤ 3 meses.

TIPO TUMOR	N°
Hepatoblastoma	1
Nefroblastoma	1

La elevada prevalencia del carcinoma intestinal en ovino adultos incluso podría haber sido infravalorada, debido al decomiso en vida realizado en ocasiones al provocar una caquexia extrema en lo animales afectados. Este tumor cursa con engrosamiento de la pared del intestino delgado y afección de linfáticos y de la serosa (Fig. 1), diarreas y adelgazamiento progresivo que conduce a la caquexia, siendo necesario un buen diagnóstico diferencial con la paratuberculosis ovina (Perez *et al.* 1999).



A



B

Figura 1. Carcinoma intestinal ovino. A.-Yeyuno con engrosamiento de la pared y de la serosa. B.- apertura del tramo de yeyuno afectado por carcinoma, en la zona de transición con el intestino normal.

Una elevada incidencia de este tumor ha sido citada también en Australia, siendo más esporádica en otros países Asimismo, se ha planteado que factores favorecen el desarrollo del adenocarcinoma intestinal en esta especie frente a otras con características de explotación y alimentación similares, proponiéndose como posibles causas del mismo, la acción de herbicidas y la predisposición genética (Newell *et al.*, 1984; Loken *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Se diagnosticaron un total de 34 tumores (0,005%), observándose 32 en ovinos adultos (0,1%). De ellos, más de la mitad (18 casos) se correspondieron con carcinomas intestinales, destacando la elevada incidencia de este tumor y la posibilidad de confusión en el diagnóstico con la paratuberculosis ovina.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson LJ, Sandison AT, Jarret WFH. A British abattoir survey of tumors in cattle, sheep, and pigs. *Vet Rec.*; 84: 547-551. 1969
- Loken T, Bjornstad ER, Ersdal C. Intestinal adenocarcinomas in three generations of sheep. *Vet Rec.*; 170. 2012. *Doi:10.1136/vr.100268*
- Misdorp W. Tumours in large domestic animals in the Netherlands. *J Comp Path.*; 77: 211-216. 1967
- Monlux AW, Anderson WA, Davis CL. A survey of tumors occurring in cattle, sheep and swine. *Am J Vet Res.*; 17: 646-677. 1956.
- Newell KW, Ross AD, Renner, RM. Phenoxy and picolinic acid hebicides and small-intestinal adenocarcinoma in sheep. *Lancet.*; 2: 1301-1305. 1984
- Perez V, Corpa JM, García-Marín JF. Intestinal adenocarcinoma in sheep in Spain. *Vet Rec.*; 144: 76-77. 1999
- Webster .A further survey of neoplasms in abattoir sheep New Zealand *Vet J.*; 15: 51.

SUMMARY

The incidence of tumours in 726,855 sheep in the slaughterhouse was studied over a period of five years. A total of 34 (0.005%) were diagnosed, 32 (0.1%) were observed in adult animals. Most of them were intestinal carcinoma (18 cases). The high prevalence in the studied sheep has described in Australia, with sporadic cases and few reports in others countries. The possible aetiologies have been proposed as being related to herbicides or genetic transmit ions

Key words: Sheep, neoplasia, intestinal carcinoma.

MUÑOZ-MENDOZA, M.¹; ROMERO, B.²; GARCÍA-MARÍN, J.F.^{3*}; MENÉNDEZ, S.⁴; MOURELO, J.¹; SÁEZ, J.L.⁵ y BALSEIRO, A.⁶

¹Subdirección de Ganadería. Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela, A Coruña.

²Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) y Dpto. de Sanidad Animal (Facultad de Veterinaria), Universidad Complutense, Madrid.

³Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana, León.

⁴Departamento de Biología Molecular del Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia, Lugo.

⁵Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad, Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.

⁶SERIDA, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Centro de Biotecnología Animal, Gijón, Asturias.

*jfgarm@unileon.es

RESUMEN

El ganado ovino se ha considerado tradicionalmente más resistente a la tuberculosis que otras especies domésticas, y los casos que se han publicado a nivel internacional y nacional siempre han sido casos individuales o de rebaños concretos. En estudios recientes han descrito en rebaños ovinos en Galicia y Castilla-La Mancha. Entre 2009 y 2013 se analizaron un total de 897 ovejas sospechosas de estar infectadas con tuberculosis y pertenecientes a 23 rebaños que cohabitaban con bovinos y/o cabras infectadas con tuberculosis en Galicia, utilizando para ello, técnicas bacteriológicas, histopatológicas, inmunológicas y moleculares. De estas, 50,44% fueron positivas por cultivo, 83,23% por histopatología y 24,92%, 4,86% y 59,42% por intradermorreacción simple, gamma-interferón y ELISA, respectivamente. Se concluye que la intradermorreacción simple y el ELISA se pueden recomendar como las pruebas iniciales más sencillas y rentables para el diagnóstico de la tuberculosis en el ganado ovino en condiciones de campo.

Palabras clave: Ovino, tuberculosis, epidemiología, patología.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis está producida por miembros de complejo *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC), principalmente *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* (Grange, 1990). El ganado ovino ha sido tradicionalmente considerado como menos susceptible a la tuberculosis que otros rumiantes domésticos tales como el bovino y el caprino. Los casos en ovino que se han publicado a nivel internacional y nacional siempre han sido casos individuales o de rebaños concretos (Muñoz-Mendoza *et al.*, 2015). En España, se han descrito algunos casos clínicos y hallazgos de necropsia o matadero (García Marín *et al.*, 1989; Aranaz *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 1997; Muñoz-Mendoza *et al.*, 2012). En consecuencia, existe poca información sobre la epidemiología, patogenia, patología de la tuberculosis y respuesta en la oveja a diferentes pruebas diagnósticas de tuberculosis. Por ello se inició un estudio en Galicia con los siguientes objetivos: (1) investigar la epidemiología de la tuberculosis en el ganado ovino; (2) establecer la distribución de las lesiones de tuberculosis en esta especie; (3) describir la histopatología de las lesiones de tuberculosis asociada; y (4) evaluar varias pruebas diagnósticas para detectar la tuberculosis en el ganado ovino en términos de su sensibilidad, especificidad y su potencial de aplicación a los rebaños de ovejas que viven en estrecho contacto con bovinos infectados de tuberculosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre 2009 y 2013 se estudiaron 215 rebaños de ganado vacuno en Galicia en los cuales se había identificado diferentes especies de MTC (*M. bovis* y *M. caprae*). Treinta y tres de estos rebaños bovinos (33/215) cohabitaban con ovinos. Además, trece de esos rebaños también convivían con caprinos. Un total de 897 ovejas pertenecientes a 23 de los 33 rebaños ovinos fueron analizadas utilizando diferentes técnicas diagnósticas (intradermorreacción simple, ELISA, gamma-Interferón, cultivo e histopatología, Muñoz-Mendoza *et al.*, 2015) con el fin de detectar una posible infección con tuberculosis, de las cuales 155 fueron estudiadas post-mortem.

RESULTADOS

De los ovinos analizados, 50,44% fueron positivos por cultivo, 83,23% por histopatología y 24,92%, 4,86% y 59,42% por intradermorreacción simple, gamma-Interferón y ELISA, respectivamente (Tabla 1). Se comprobó en todos los casos que las mismas cepas de *M. bovis* y

M. caprae eran compartidas entre los ovinos y los bovinos y/o caprinos con los que convivían, demostrando un lazo epidemiológico.

Tabla 1. Resultados a las diferentes técnicas diagnósticas de tuberculosis utilizadas en rebaños ovinos sospechosos de estar infectados con tuberculosis y que convivían con bovinos y/o caprinos infectados.

Técnica	Resultado			Total analizados
	Positivo	Dudoso	Negativo	
Cultivo	115/228 (50.44%)	-	105/228 (46.06%)	228
Histopatología	129/155 (83.23%)	-	26/155 (17.77%)	155
Intradermoreacción simple*	151/606 (24.92%)	46/606 (7.59%)	409/606 (67.49%)	606
Gamma-Interferón	22/453 (4.86%)	-	431/453 (95.14%)	453
ELISA	41/69 (59.42%)	13/69 (34.33%)	15/69 (21.74%)	69

*0-1: negativa, 2-3: dudosa, 4=<: positiva.

Tras el sacrificio de los animales se detectaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis en 16 de los 23 rebaños (69,56%) y en 97 de las 159 ovejas examinadas (61,00%, Tabla 2). El examen *post-mortem* reveló diferentes grados de extensión de las lesiones, que fueron clasificadas como de “pequeños nódulos” cuando su extensión era menor de 5 cm de diámetro (Figura 1) y que estaban presentes en la mayoría de los animales afectados (94/97, 96.91%), y de “grandes nódulos” cuando consistían en lesiones más amplias afectando a amplias zonas de parénquima pulmonar, con contenido purulento o caseoso parcialmente calcificado y que ocupaba una porción o todo el tejido (3/97, 3,09%, fig 1).

Todas las técnicas inmunológicas utilizadas en el presente estudio (intradermoreacción, gamma-interferón y ELISA) demostraron ser útiles para la detección de la tuberculosis en el ganado ovino aunque con limitaciones, siendo el test ELISA y el de mayor sensibilidad, aunque se analizaron un número menor de animales que por otras técnicas.

Tabla 2. Distribución de lesiones macroscópicas en ovejas infectadas con tuberculosis.

Presencia de lesiones	Número de animales/Total animales (%)
Ovejas	97/159 (61%)
Lesiones únicas localizadas	31/97 (31,96%)
LN Mandibular	0%
LN Retrofaríngeo	3/31 (9,68%)
LN Bronquial	14/31 (45,16%)
LN Mediastínico	5/31 (16,13%)
Pulmón	6/31 (19,35%)
LN Preescapular	1 (3,22%)
Hígado/LN Hepático	2 (6,45%)
Lesiones generalizadas (localizadas en dos o más tejidos ej. LN y pulmón)	66/97 (68,04%)

LN, linfonodo

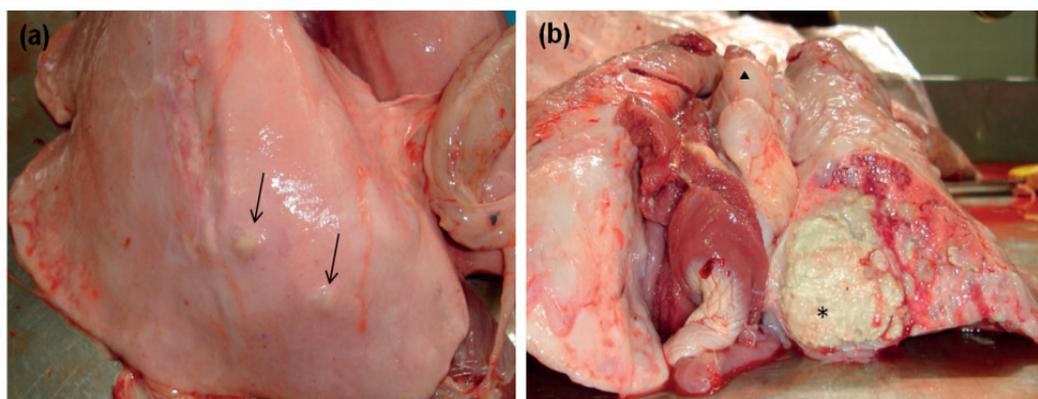


Figura. 1. Tipos de lesiones macroscópicas de tuberculosis en ovino. a) Pulmón; forma de pequeños nódulos. Se observan dos pequeños nódulos (flechas) en la superficie del pulmón. b) Pulmón; forma de grandes nódulos. Se observa un gran nódulo caseoso en el lóbulo diafragmático del pulmón (asterisco) y pequeños nódulos satélites que lo rodean. También se evidencia una severa linfadenitis (cabeza de flecha).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las ovejas, al menos cuando comparten granjas y pastos con ganado bovino y/o caprino infectado de tuberculosis, se infectan a partir de ambas especies y deberían ser tenidas en cuenta como fuentes potenciales de tuberculosis y analizadas para comprobar su estado, ya que pueden representar un riesgo potencial para otras especies susceptibles. Las mismas técnicas de diagnóstico que ya están en uso para el ganado bovino y caprino podrían ser utilizadas para tales fines. Sin embargo, la intradermorreacción simple y el test ELISA, realizados conjuntamente

serían los planteamientos iniciales futuros más sencillos y rentables para el diagnóstico de la tuberculosis en rebaños de ovejas en condiciones de campo. Dada la abundancia y distribución de la cabaña ovina en España, este resultado puede tener implicaciones futuras importantes para el control de la tuberculosis animal, en situaciones epidemiológicas similares a las descritas en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranaz, A., Liébana, E., Mateos, A., Domínguez, L., Vidal, D., Domingo, M., González-Llamazares, O., Rodríguez-Ferri, E., Bunschotten, A., Van Embden, J.D.A., and D.V. Cousins, 1996: Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 34, 2734-2740.
- García Marín, J.F., Luján, L., and J.J. Badiola, 1989: Diagnóstico de tuberculosis ovina. *Producción ovina Itea* 9, 163-165.
- Grange, J.M., Yates, M.D., and E. Boughton, 1990: A review. The avian tubercle bacillus and its relatives. *J. Appl. Bacteriol.* 68, 411-431.
- Gutiérrez, M., Samper, S., Jiménez, M.S., Van Embden, J.D.A., García-Marín, J.F., and C. Martín, 1997: Identification by spoligotyping of a caprine genotype in *Mycobacterium bovis* strains causing human tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 35, 3328-3330.
- Muñoz Mendoza, M., de Juan, L., Menéndez, S., Ocampo, A., Mourelo, J., Sáez, J.L., Domínguez, L., Gortázar, C., García Marín, J.F., and A. Balseiro, 2012: Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* in sheep. *Vet J.* 191, 267-269.
- Muñoz-Mendoza, M., Romero, B., del Cerro, A., Gortáza, C., García-Marín, J.F., Menéndez, S., Mourelo, J., de Juan, L., Sáez, J.L., Delahay, R.J., Balseiro, A., 2015. Sheep as a potential source of bovine TB: epidemiology, pathology and evaluation of diagnostic techniques. *Transbound Emerg Dis.* doi: 10.1111/tbed.12325.

SHEEP AS A POTENTIAL SOURCE OF TUBERCULOSIS

SUMMARY

Tuberculosis infection is infrequently diagnosed in sheep. Most reports are from single individual cases or flock outbreaks. However, in Spain several outbreaks have been reported recently, all of which had epidemiological links with tuberculosis infected cattle herds or goat flocks. A total of 897 sheep suspected of being infected with tuberculosis and belonging to 23 flocks cohabiting with tuberculosis infected cattle herds and/or goats were tested between 2009 and 2013 in Galicia (northwest Spain), using pathological, immunological and molecular techniques. Of these, 50.44% were positive using culture, 83.23% by histopathology and 24.92%, 4.86% and 59.42% using a single intradermal tuberculin test (SITT) Interferon- γ and ELISA, respectively. Results suggest that in the circumstances to those in our study, sheep can be infected from cattle and goat and may be considered as a potential source of tuberculosis. SITT and ELISA are recommended as the simplest and most cost-effective initial approaches for the diagnosis of tuberculosis in sheep under field conditions.

Key words: Sheep, tuberculosis, epidemiology, pathology

PRESENCIA DE INFECCIÓN Y LESIONES MÍNIMAS EN MAMA Y OTROS TEJIDOS EN OVINOS AFECTADOS DE MAEDI-VISNA

GAYO, E.¹; POLLEDO, L.²; PEREZ, C.¹; GARCÍA IGLESIAS, M.J.¹; BALSEIRO, A.³ y GARCÍA-MARÍN, J.F.^{1*}

¹Histología y Anatomía Patológica. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

²Micros Veterinaria. León.

³SERIDA. Asturias.

*jfgarm@unileon.es

RESUMEN

Uno de los órganos diana en ovinos infectados por el virus del Maedi-Visna (VMV) es la glándula mamaria. Sin embargo, la importancia de las lesiones mínimas no ha sido estudiada. En este trabajo se estudiaron 42 ovinos infectados por el VMV, de los cuales 32 presentaron lesiones en la mama, siendo “mínimas” en 14 casos y moderadas o graves en 18. Todos ellos fueron positivos a la presencia de VMV en el tejido mamario. Estas lesiones mínimas “lesiones mínimas” no fueron consideradas con anterioridad, implicando nuestros resultados un incremento de animales con lesión e infección mamaria. Asimismo, sería necesario cuantificar estas alteraciones en cuanto al porcentaje de parénquima afectado y su implicación en la producción de leche.

Palabras clave: Maedi-Visna, ovino, glándula mamaria, patología.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del Maedi-Visna, provocada por la infección de un lentivirus de los pequeños rumiantes, está ampliamente extendida entre la ganadería ovina española desde hace décadas (Luján *et al.*, 1993), especialmente en los rebaños de producción intensiva de leche, donde es habitual encontrar seroprevalencias superiores al 80% (Leginagoikoa *et al.*, 2006). La infección y lesión mamaria es conocida desde hace tiempo (Lujan *et al.* 1991), y se ha asociado a la infección por vía

lactógena de corderos. Sin embargo, ha sido escasamente estudiada desde el punto de vista de la intensidad y extensión de la lesión y la consiguiente pérdida de parénquima mamario y producción lechera, y nunca en ovejas dedicadas a la producción intensiva de leche donde cualquier mínima alteración en la glándula mamaria podría conducir a una disminución significativa de la producción y calidad de la leche. En algunos estudios se evidencia un menor crecimiento de corderos lactantes de madres seropositivas (Pekelder *et al.*, 1994; Lipecka *et al.* 2013). No obstante, estos trabajos se realizaron en ovejas de razas cárnicas en régimen extensivo o semi-intensivo y no se tenían en cuenta los estrictos controles lecheros actuales, relacionados con la cantidad por oveja, rendimientos queseros y presencia de células somáticas. En este sentido, en estudios previos se consideraba la presencia de lesiones intersticiales mínimas como normales en las ovejas en régimen extensivo “clínicamente sanas” (Lujan *et al.* 1991), algo que no sería aceptable hoy en día en producción intensiva, desde nuestra experiencia y punto de vista (Gayo *et al.* 2013). El objetivo de este trabajo es valorar el tipo de lesiones y la intensidad de las mismas producidas por el virus del Maedi-Visna (VMV) en la glándula mamaria con sus implicaciones en el diagnóstico y control de la enfermedad en ovino intensivo de leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 42 ovinos de raza Assaf procedentes de explotaciones intensivas de leche con elevada seroprevalencia frente a VMV (>70%). Treinta animales presentaban clínica asociada a Maedi-Visna, tanto de la forma mamaria como pulmonar o nerviosa, y 12 no presentaban clínica aparente. Los animales fueron eutanasiados y se realizó una necropsia sistemática y completa, con especial atención a la glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central (SNC). Se llevaron a cabo estudios histopatológicos, así como inmunohistoquímicos para la detección de antígenos víricos (glicoproteína vírica gp135). La PCR se realizó en secciones de tejido incluido en parafina para la amplificación de las regiones LTR de 291 pb y GAG de 744 pb del provirus de Maedi-Visna.

RESULTADOS

Los 42 animales presentaban lesiones características de Maedi-Visna. Todos tenían lesiones en pulmón, 39 en SNC y 32 en mama. En las 42 ovejas se detectó antígeno vírico mediante técnicas de IHQ y/o PCR, incluidas aquellas que presentaron “lesiones mínimas” en la glándula mamaria.

En la glándula mamaria las lesiones leves (+) consistían en la presencia de pequeños grupos de células inflamatorias focales (5-20) en el intersticio y rodeando algunos acinos, con formación de pequeños agregados linfoides o 1 folículo linfoide. En las moderadas (++) se observaron de 2 a 15 agregados/folículos linfoides y/o una mamitis intersticial más extensa y con una ligera destrucción de tejido en algunos lobulillos. Las lesiones graves (+++) se caracterizaban por la presencia de más de 15 agregados/folículos linfoides y/o una mamitis intersticial grave con destrucción difusa de acinos, afectando en algunos casos a toda la glándula mamaria. La glándula mamaria fue el órgano donde se observaron mayores diferencias en la población celular predominante con respecto al resto de los órganos estudiados, con un elevado número de linfocitos T (CD3+). Catorce animales presentaron leve y 18 moderadas o graves (Tabla 1). Asimismo, aunque no se hayan incluido de forma pormenorizada en este estudio animales negativos, no se observaron alteraciones en animales no infectados.

Tabla 1. Distribución de lesiones en la mama por intensidad de las mismas.

LESIÓN EN GLÁNDULA MAMARIA	Nº Ovejas
Total	32
MI/HL +	14
++	11
+++	7

Por otra parte, en 33 de los 42 animales estudiados se observaron lesiones moderadas o graves ++ / +++ en al menos uno de los órganos estudiados (78.57%). En la tabla 2 se muestra la distribución por órgano de estas lesiones en cada órgano y el número de ovejas afectadas. En los restantes 9 animales solo se observaron lesiones mínimas y no siempre en los tres órganos diana.

Tabla 2. Distribución de las lesiones más graves en los tres órganos diana.

LESIONES GRAVES		Nº ANIMALES	Total
1 ÓRGANO	SNC	8	15
	Pulmón	3	
	Glándula mamaria	4	
2 ÓRGANOS	SNC/Pulmón	4	12
	SNC/Glándula mamaria	5	
	Pulmón/Glándula mamaria	3	
3 ÓRGANOS	SNC/Pulmón/G. mamaria	6	6
TOTAL		33	

DISCUSIÓN

En este trabajo se hace un estudio pormenorizado del tipo y la intensidad de las lesiones producidas en la glándula mamaria por el Maedi-Visna ovino, considerándose no solo las mamitis clínicas sino también las mamitis subclínicas, que dan lugar a una pérdida de parénquima mamario, especialmente el relacionado con las lesiones, dando lugar a una disminución de la producción de leche. A diferencia de lo que se consideró en estudios anteriores (Lujan *et al.* 1991), la presencia de pequeños grupos de células inflamatorias en el intersticio de la glándula mamaria no se considera normal en este estudio, ya que en aquel momento se estudiaron ovejas en extensivo sin especial cuidado de la mama y con un elevado índice de mamitis clínica y subclínica, a diferencia de los cuidados y parámetros que se toman actualmente en ovino intensivo lechero. Por ello, se debería considerar como sospechoso de lesión de Maedi-Visna la presencia de cualquier agregado intersticial de linfocitos y macrófagos. Los pequeños grupos de células inflamatorias, principalmente linfocitos, no se observan en la glándula mamaria de animales sanos, descartando la teoría de que están presentes en pequeñas cantidades en mamas no afectadas. Este hecho aumentaría considerablemente la proporción de animales con infección de la glándula mamaria, 78,6% frente al 39,5% observado anteriormente (Lujan *et al.*, 1991), y que sería similar al 42,8% de lesiones moderadas/graves de nuestro estudio. Asimismo, estas lesiones mínimas mamarias van asociadas en la mayoría de las ocasiones, pero no siempre, a lesiones compatibles con Maedi-Visna en pulmón y/o SNC así como a una positividad en IHQ y/o PCR.

CONCLUSIONES

Se han diagnosticado en la glándula mamaria una elevada proporción de lesiones “mínimas”, no asociadas anteriormente con la infección por el ovino, con presencia en las mismas de este virus. Este hecho incrementaría la proporción de animales con infección mamaria considerados hasta ahora, aumentando posiblemente su importancia en la producción lechera intensiva, asociada al Maedi-Visna ovino.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por los proyectos LE361A12-1 y LE314U14 de la Junta de Castilla y León y por una beca FPU del Ministerio de Educación. A Gloria Belver y Jaime Reyero por su asistencia en las técnicas anatomopatológicas. A todos los veterinarios clínicos que nos remitieron los animales de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Gayo E, Polledo L, Perez C, García Iglesias, MJ., Ferreras, MC., García Marín, JF. (2013). Relación entre los patrones de lesión y la respuesta inmune local con la presencia de virus en tejidos y el nivel de seropositividad en ovinos afectados de Maedi-Visna. En: Libro de Actas del XVIII AVEDILA Symposium. Madrid, Spain. p. 38.
- Leginagoikoa. I., Juste, R.A., Barandika, J., Amorena, B., de Andrés, D., Luján, L., Badiola, JJ., Berriatua, E. (2006) Extensive rearing hinders Maedi-Visna Virus (MVV) infection in sheep. *Veterinary Research*, 37, 767-78.
- Lipecka, C., Junkuszew, A., Kuzmak, J., Gruskezi, TM., Kozaczynska, B., Olech, M. Bojar, W., Osinski, Z. (2013). Influence of small ruminant lentivirus infection on reproductive traits in ewes. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 1, 15-18
- Luján, L., Badiola, J.J., García Marín, J.F., Moreno, B., Vargas, A., Fernandez de Luco, D., Pérez, V, (1993). Seroprevalence of maedi-visna infection in sheep in the North-East of Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 15, 181-190.
- Luján, L., García Marín, J.F., Fernández de Luco, D., Vargas, A. and Badiola, J.J (1991). Pathological changes in the lungs and mammary glands of sheep and their relationship with maedi-visna infection. *Veterinary Records*, 129, 51-54.
- Pekelder, J. J., Veenink, G. J., Akkermans, J. P., Van Eldik, P., Elving, L. and Houwers, D. J. (1994). Ovine lentivirus induced indurative lymphocytic mastitis and its effect on the growth of lambs. *Vet Rec*, 134, 348-350.

INFECTION AND MINIMAL LESIONS IN MAMMARY GLAND AND OTHER TISSUES IN SHEEP WITH MAEDI-VISNA

SUMMARY

The mammary gland is one of the target organs of the infection by Maedi-Visna virus in sheep. However, minimal lesions have not been considered. Forty two infected sheep were studied and mammary gland lesions were found in 32 sheep showing only minimal lesions 14 of them. The rest of the sheep showed moderate to severe lesions in the mammary gland. All of them (32) showed the presence of the virus in the mammary tissue. The minimal lesions described were not previously considered which would imply and increase the animals with mammary lesions and infection. Moreover, the study into the loss parenchyma in any lesion of the mammary glands should be studied and related with milk production.

Key words: Maedi-Visna, ovino, mammary gland, pathology.

TIMPANISMO CRÓNICO RECIDIVANTE EN GANADO OVINO: ESTUDIO DE DOS CASOS

VALERO, M.³; FERRER, L.M.¹; CLIMENT, M.²; FIGUERAS, L.P.^{1,2}; NAVARRO, T.¹; RUIZ DE ARCAUTE, M.¹ y RAMO, M.A.¹

¹Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177.50013 Zaragoza.

²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177.50013 Zaragoza.

³Gabinete Técnico Veterinario S.L. C/Isla conejera s/n.50014 Zaragoza.

RESUMEN

El timpanismo o meteorismo es una alteración caracterizada por la acumulación de gas en el interior del retículo-rumen, en cantidad suficiente como para provocar una distensión de la pared abdominal izquierda. Existen dos tipos de timpanismos: el espumoso y el gaseoso; aunque las etiologías son diversas, éstas siempre se centran en el retículo-rumen, el líquido ruminal y su fermentación o en la dificultad para que el gas salga al exterior. En este trabajo se presentan dos casos de timpanismo-crónico recidivante en ovino asociados a etiologías poco frecuentes que impiden la liberación del gas al exterior.

Palabras clave: Timpanismo, hígado, esófago.

PRESENTACION DEL CASO

El meteorismo es una patología relativamente frecuente en rumiantes que se suele presentar en casi todas las explotaciones, bien de forma individual o afectando a un amplio colectivo, pero pocas veces es causa de la visita del veterinario (Church, C.D. 1993).

Caso clínico 1:

En el mes de diciembre se remite al Servicio de Clínica de Rumiantes (SCRUM) un morueco adulto de 3 años, de raza Salz, procedente de una

explotación de ovino de carne situada en la localidad de Pina de Ebro (Zaragoza). El motivo del traslado a la Facultad fue que 10 días antes, el ganadero había encontrado al animal con ptialismo y la semana anterior presentaba timpanismo. En la anamnesis se constató que las constantes vitales eran normales, excepto el aumento de la frecuencia cardiaca, aunque en este caso se explicara por el carácter nervioso del animal. En la exploración se observó una disnea inspiratoria con flujo turbulento, con ronquido húmedo localizado en el lóbulo craneal derecho, un abultamiento dorsal en el lado izquierdo y una condición corporal de 1, en la escala 1-5; no presentando ninguna otra alteración.

Durante el tiempo de estancia en la Facultad de Veterinaria, se observó la distensión del lado izquierdo del abdomen. El animal se hinchaba y deshinchaba periódicamente, siendo mayor la distensión después de comer. Una vez pasado un cierto tiempo, el animal rumiaba y eliminaba el gas sin tratamiento.

Con el fin de diagnosticar el tipo de meteorismo se sondó varias veces al animal, viendo que la sonda pasaba de forma relativamente fácil, aunque el animal era reacio a la realización de la técnica, y salía gas en alguna ocasión. Se le realizaron también radiografías de tórax latero-lateral y ventro-dorsal, en las cuales se observó un patrón pulmonar que podría corresponder a una posible bronconeumonía, y una masa localizada en la zona posterior y medial de la cavidad torácica. Asimismo, se realizaron varias ecografías de la zona para poder diagnosticar la procedencia y naturaleza de la imagen vista por radiografía, encontrándose una masa de unos 8 cm de diámetro en la zona mediastínica caudal.

Durante la necropsia se pudo comprobar que el animal tenía un aplastamiento traqueal en la zona caudal; enfisema y abscesos en el pulmón, con fibrosis en cavidad torácica y pleura; adherencias localizadas en la pleura, por encima de la masa detectada en la radiografía, además de parasitosis en el hígado. El aparato digestivo estaba normal y la disección del nervio vago no aportó ninguna lesión, pero se pudo localizar un divertículo en la zona caudal del esófago con adherencias a pulmón y a la pared del esófago en la zona coincidente con la imagen radiográfica citada, habiendo desaparecido la musculatura de la zona dorsal y áreas laterales de unos 10 cm de esófago.

Caso clínico 2:

El segundo caso afectó a otro macho, de raza Rasa Aragonesa, procedente de una explotación de la comarca del Campo de Daroca, con sistema de manejo semi-extensivo. El animal fue trasladado en octubre como animal de prácticas a la Facultad de Veterinaria. A la inspección se

observaba una distensión de abdomen localizada en la zona izquierda, y con antecedentes de timpanismo recurrente. Se trataba de un macho de unos 8,5 años de edad sin patologías apreciables y con aspecto y apetito normales y una condición corporal de 2,5, en la escala 1-5. Durante el tiempo de anamnesis y exploración del animal no se observaron signos de timpanismo, las constantes vitales eran correctas, con tos seca y fuerte, un aplastamiento traqueal en la zona media y aumento de tamaño de los nódulos linfáticos parotídeo, submandibular y preescapular del lado izquierdo. Horas más tarde de la exploración, se pudo apreciar que el animal sufría una distensión de la zona abdominal izquierda, que al día siguiente y sin tratamiento había disminuido.

Se realizó un sondaje esofágico en el que se comprobó la permeabilidad del esófago y se tomaron varias ecografías en el flanco izquierdo, con lo que se sospechó de esplenomegalia y una desituación o desplazamiento del hígado respecto a su situación anatómica normal. Asimismo, se realizaron pruebas complementarias y a partir de la hematología se apreció una ligera anemia. En radiografías latero-lateral y ventro-medial se pudo ver en los lóbulos caudales un patrón que podría corresponder a una posible neumonía. Al no encontrar explicación a la distensión abdominal, ni a la localización anormal del hígado, se realizó una laparoscopia desde el flanco izquierdo, donde solo se pudo observar el bazo, pero no se encontró el hígado en su ubicación habitual. Así que se decidió practicar una laparotomía exploratoria y una ruminotomía para descartar obstrucción en cardias o cualquier alteración que facilitase el timpanismo, donde se pudo ver una gran cantidad de comida sin terminar de digerir en rumen y retículo. En el lado derecho, en la zona craneal del abdomen, se palpó un pilar fuerte de tejido hepático que no se pudo definir su naturaleza por simple palpación (Climent, S. 2005).

La necropsia fue fundamental para el diagnóstico definitivo. En ella se realizaron varios hallazgos: el nódulo preescapular estaba aumentado de tamaño y caseificado. En el digestivo se vieron cisticercos y úlceras en rumen por una posible ruminitis. Lo más significativo fue encontrar una ligera zona de atrofia en el hígado con forma de surco, que permitía al mismo doblarse sobre sí mismo sin haberse roto su parénquima, teniendo el hígado consistencia firme y la vesícula biliar aumentada de tamaño.

DISCUSION

Estos dos casos de timpanismo gaseoso demuestran que esta patología tiene una etiología muy variada, añadiendo a la casuística ya conocida: obstrucción esofágica, tétanos, intoxicaciones, papilomas, anafilaxia,

hipocalcemia, esofagitis, ruminitis, timo de gran tamaño persistente, etc. (Blood, D.C. 2002) dos causas nuevas que producen una obstrucción en cardias y/o esófago evitando la salida del gas desde el rumen, produciendo una distensión de la zona craneal del flanco.

Después de todas las pruebas realizadas y una exploración completa de ambos animales, se tomó como hipótesis que en el primer caso el meteorismo podría estar producido por obstrucción del esófago por una masa localizada en la zona mediastínica que comprimía el esófago (Fidago, E. 2003), y en el segundo sin causa concluyente, pero se barajaba un síndrome vagal o una distorsión anatómica, aunque no se pudo comprobar en la laparotomía exploratoria.

La necropsia y los hallazgos en ella son los que definitivamente nos dan las claves de lo que ocurrió en estos dos casos, aunque son diferentes tienen en común el meteorismo que producen.

En el primer caso, durante la necropsia todo era normal, se realizó una disección del nervio vago el cual estaba correcto, incluso todas sus ramas que recorren el rumen; se realizó una exhaustiva revisión de todo el digestivo desde la boca hasta el recto (Popesko, P. 1998). Lo único significativo que se encontró fue, un divertículo en la zona más caudal del esófago, el cual se llenaba de alimento durante la ingestión rápida de la ración y, provocaba una obstrucción del mismo, dificultando así la eructación. Una vez iba pasando la comida a rumen, se reestablecía el eructo y desaparecía el timpanismo.

En el segundo caso, se encontró todo correcto, pero se vio que el hígado tenía en su zona media un surco, desde la entrada del ligamento redondo hasta la escotadura esofágica del hígado favoreciendo el plegado sobre sí mismo (Sisson, G. 1975). El órgano no estaba roto, su consistencia era normal, pero tenía en la zona del surco más elasticidad de la habitual, ya que se podía doblar por la mitad. La causa de este timpanismo podría ser la desituación del retículo al doblarse el hígado. Es posible, que tras la ingestión de alimento, la distensión del rumen-retículo facilitase el pliegue del hígado sobre sí mismo, dejando espacio al retículo que por el peso del alimento se desplazara a la parte que ocupaba antes el lóbulo hepático izquierdo, localizándose éste entre el hígado, el diafragma y quedar pegado a la pared abdominal. Esta desituación de los órganos y el peso del alimento tiraba de pilar izquierdo del surco gástrico y tendía a torcer el cardias y el agujero retículo-omasal, causando la acumulación del gas producido. Pero cuando pasaba el alimento a los siguientes compartimentos digestivos, el hígado y el retículo no volvían a su localización normal, pero mejoraba la posibilidad de eliminación del gas por la liberación de la torsión de dichos pilares (Habel, R.E.

1988). Se baraja la hipótesis de que posiblemente las úlceras ruminales aparecieron tras empachos y acidosis al comer rastrojo con abundante espiga en el campo, durante el mes de julio, cuando comenzó el problema de timpanismo; alguna repleción extraordinaria del rumen, separó y dobló el hígado y este permaneció fuera de su lugar dificultando la digestión, junto con la desituación del retículo.

En estos casos no se realizó tratamiento ya que los animales se recuperaban sin ninguna intervención, pero si se quisieran haber tratado; en el primer caso sería necesaria una cirugía en esófago para eliminar el divertículo y parte esofágica afectada y en el segundo sería mediante otra cirugía para anclar el hígado a la pared del diafragma, no siendo rentable en ningún caso en términos productivos. No existe ninguna prevención para estos casos de obstrucciones atípicas del esófago, solo la observación y eliminación de estos animales si son muy problemáticos los episodios de distensión ruminal.

CONCLUSIONES

El timpanismo es un proceso fácil de diagnosticar en campo por su visible distensión del flanco izquierdo, pero la etiología es más difícil de concretar. Así pues, es necesario realizar una anamnesis profunda para saber el origen de la patología. En estos dos casos se muestran dos etiologías atípicas de obstrucción esofágica que provocan meteorismo. La realización de diferentes pruebas (sondaje, radiografías, ecografías, laparoscopias, laparotomía y ruminotomía exploratoria, etc.) ayudan a orientar muchos casos pero, por desgracia, algunos de ellos son diagnosticados finalmente durante la necropsia.

BIBLIOGRAFIA

- Blood, D.C; (2002) Manual de Medicina Veterinaria. Ed: McGraw-Hill interamericana
- Church, C.D. (1993) El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Ed: Acribia
- Climent, S. *et al.*; (2005) Manual de anatomía y embriología de animales domésticos: conceptos básicos y datos aplicativos. Ed. Acribia
- Fidalgo Álvarez, E.; *et al.* (2003) Patología medica veterinaria: libro de texto para la docencia de la asignatura. Universidad de Santiago de Compostela.
- Habel, R.E; (1988) Anatomía veterinaria aplicada. Ed: Acribia
- Popesko, P; (1998) Atlas de anatomía topográfica de los animales domesticos. Ed: Masson
- Sisson, G; *et al.* (1975) The Anatomy of the domestic animals. Ed: W.B. Saunders.

CHRONIC RELAPSING TYMPANY IN SHEEP: CLINICAL CASES

SUMMARY

Tympany is an alteration characterized by an accumulation of gas inside the ruminoreticulum, causing an overdistension of the left abdominal flank. There are two types of tympanism: frothy bloat or primary ruminal tympany and free gas bloat or secondary ruminal tympany. Despite its etiology, both ruminal fluid and its fermentation are altered and there is a difficulty to eructate. With this work we present two clinical cases of chronic relapsing tympany in sheep associated with unfrequent etiology, blocking the release of gas to the exterior.

Key words: Tympanism, liver, oesophagus.

VALORACIÓN DEL AZUL DE METILENO EN DERMATOMICOSIS OVINAS

MOROS, E.¹, RAMOS, J.J.¹; REZUSTA, A.²; PÉREZ, V.²; FERRER, L.M.¹; NAVARRO, T.¹; MARTÍNEZ, M.¹ y LACASTA, D.M.¹

¹Facultad de veterinaria. Universidad de Zaragoza. Departamento de patología animal.

²Sección de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet.

RESUMEN

La dermatomicosis es una enfermedad causada por hongos, generalmente del género *Trichophyton* en el caso del ovino, aunque puede haber otras especies implicadas. Un problema que nos encontramos hoy en día al hablar de esta patología es la ausencia de productos para su tratamiento, razón por la que están surgiendo terapias alternativas como es la utilización del azul de metileno en la terapia fotodinámica.

El objetivo de este estudio es comprobar el efecto del azul de metileno como agente fotodinámico en el tratamiento de la dermatomicosis causada por *T. verrucosum* en un rebaño de ganado ovino. En el trabajo se plantearon dos protocolos terapéuticos diferentes: aplicación una o dos veces por semana de una solución al 1% de azul de metileno por vía tópica. Al final del estudio comprobamos que el tratamiento fue favorable en ambos casos, sin encontrar diferencias en la resolución de la lesión cutánea.

Palabras clave: dermatomicosis, terapia fotodinámica, ovino

INTRODUCCIÓN

La dermatomicosis en ganado ovino suele estar causada por *Trichophyton verrucosum*. El cuadro clínico se caracteriza por la aparición de lesiones cutáneas principalmente en la cabeza, aunque pueden aparecer en otras localizaciones. Estas lesiones normalmente son circulares, asociadas

a intenso prurito y a la formación de costras. Además, van creciendo con el tiempo hasta que la respuesta inmune del animal hace que este crecimiento se detenga. La incidencia de esta patología es mayor en el invierno por el contacto que se produce entre los animales al estabularlos, así como por la temperatura y la humedad ambiental, que es más favorable para el crecimiento del hongo (Malone *et al.* 1987; Abarca *et al.* 1997; Aikten *et al.* 2002).

Esta es una enfermedad a la que no se da la suficiente importancia, a pesar de ser zoonótica, y que puede permanecer más de 1 año en el ambiente si tiene un sustrato adecuado. Una característica clínica que le resta interés es que las lesiones se acaban “autocurando” al cabo de 4-6 semanas, aunque esto no es así, ya que simplemente la oveja afectada se ha adaptado al hongo y se queda como portadora, permitiendo la transmisión de la infección a otros animales (Jungerman *et al.* 1977).

En la farmacopea autorizada no hay un tratamiento específico para la tiña del ganado ovino y los que hay en otras especies requieren tiempos de tratamiento muy elevado y resultan muy costosos (Guiavet, 2013). Por tanto, se propone tratamiento de las dermatomicosis mediante la utilización del azul de metileno como fotosensibilizante en la terapia fotodinámica.

La terapia fotodinámica es propuesta como un tratamiento alternativo, esta terapia es una forma de quimioterapia en la que se usa un espectro de luz no dañino como agente activador, en este caso de un tinte no tóxico como es el azul de metileno, que actúa como agente fotosensibilizador. (Allen *et al.* 1999; Baptista *et al.* 2005)

Para que la terapia fotodinámica sea efectiva necesitamos un fotosensibilizante, en nuestro caso será una disolución de azul de metileno al 1%, una fuente de luz que será la luz solar y por último oxígeno que actuara como agente oxidante en la reacción, permitiéndole su efecto terapéutico. (Baptista *et al.* 2005; De Carvalho *et al.* 2012).

Este efecto terapéutico está basado en la capacidad lítica de las células por parte del agente fotosensibilizante una vez activado por la fuente de luz. Esta zona está delimitada por el área de aplicación del agente fotosensibilizador, permitiendo determinar la zona de actuación. (Allen *et al.* 1999)

Se han realizado estudios recientes *in vitro* que demuestran la inactivación de los dermatofitos al recibir la terapia fotodinámica, mostrándose eficaz, al reducir en 3 unidades logarítmicas la concentración de *Trichophyton*, en función de la cantidad de luz aportada, con la hipericina como agente fotosensibilizador (De La Paz *et al.* 2013)

Este estudio se planteó con objeto de comprobar la capacidad del azul de metileno como fotosensibilizante en la terapia fotodinámica, tópica, en nuestro caso, como tratamiento de un rebaño afectado por dermatofitosis causado por *Trichophyton* spp. Y poder ver si se puede instaurar como terapéutico para el tratamiento de esta patología.

MATERIAL Y MÉTODOS

En un rebaño de ovejas raza Rasa aragonesa apareció un caso de dermatofitosis que afectó a 20 corderas de reposición (de 200 cabezas) en el momento del estudio. Los animales afectados mostraron lesiones alopecicas en un patrón focal- multifocal en la zona rostral. Se tomaron muestras de estas lesiones para aislar e identificar el agente causal. La técnica empleada para la recogida de muestras siguió los siguientes pasos:

1. Limpieza mecánica de la zona, quitando toda la suciedad visible de la zona de la que queremos tomar la muestra.
2. Desinfección de la zona con etanol 70.
3. Raspado de la zona lesionada y envío de las muestras al laboratorio.

Estas muestras se cultivaron en diferentes medios de cultivo: DTM (Dermatophyte Test Medium), un agar de patata adicionado con 50mg/l de cloranfenicol, medio de cultivo de agar de Sabouraud con dextrosa adicionado de cloranfenicol y un agar mycobiotic modificado del dermasel al que añadió tween 80, huevo y cloranfenicol.

Entre las corderas afectadas decidimos tratar 10 de ellas, 5 se trataron una vez por semana y las otras 5 se trataron 2 veces por semana. A estas corderas se les aplicó una disolución de azul de metileno al 1% de forma tópica en las lesiones, tras lo cual las corderas estuvieron en una zona donde les daba el sol para que la terapia fotodinámica fuese efectiva. Esta pauta se siguió durante 4 semanas. Hay que tener en cuenta que la disolución de azul de metileno debe estar fuera del alcance de la luz entre las dosis para que no pierda su efectividad.

El resto de corderas afectadas no fueron tratadas, quedándose como testigo, para comparar posteriormente la evolución de las lesiones en ambos grupos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el cultivo de las muestras tomadas se identificó *Trichophyton* spp como el agente causal, tanto mediante el examen macroscópico como microscópico de la colonias que crecieron en los medios de cultivo.

Respecto a las corderas tratadas: tras el primer tratamiento las lesiones paran de crecer y van disminuyendo con el tiempo, hasta que tras las cuatro semanas del tratamiento no se aprecian lesiones en la piel, al contrario de lo que sucede con las corderas no tratadas, cuyas lesiones (tamaño y aspecto) no se modificaron tan apenas. Aunque no se ha visto una diferencia significativa entre las tratadas una vez por semana y las tratadas dos veces. (Imágenes 1 y 2)

Imagen 1. Ovejas tratadas una vez por semana.

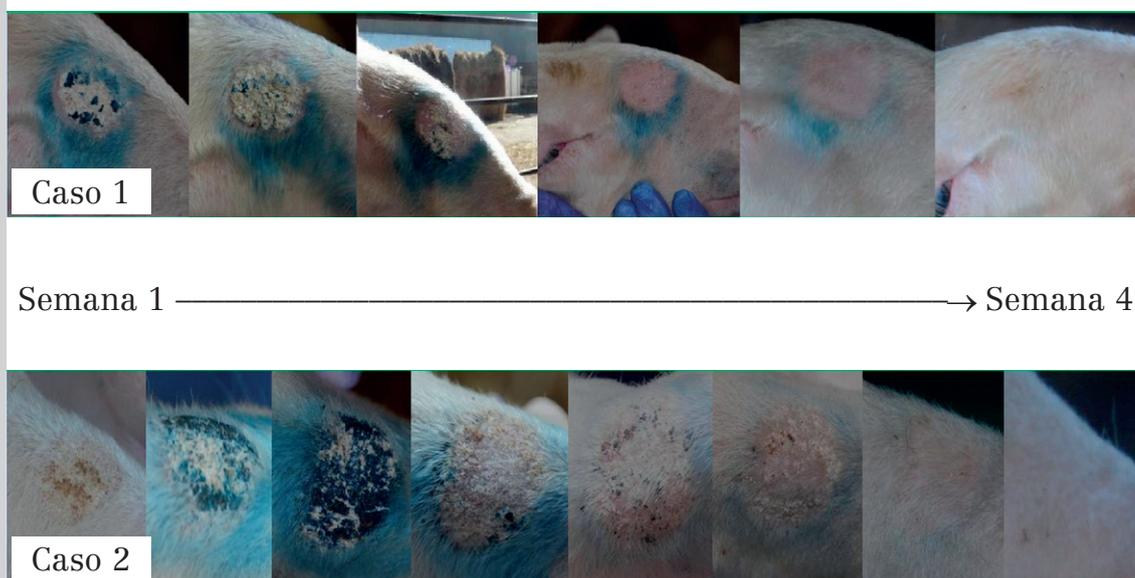


Imagen 2. Ovejas tratadas dos veces por semana.

CONCLUSIONES

Tras la realización de este estudio podemos decir que la disolución del azul de metileno al 1% es un tratamiento válido para las dermatomicosis cutáneas, tanto por su capacidad de resolución clínica, como por su inocuidad, sin olvidarnos de la facilidad de aplicación y de su escaso valor económico. Lo que se tendría que plantear para un estudio posterior es si al tratar con el azul de metileno también conseguimos deshacernos del estado portador que puede ocurrir tras padecer una dermatomicosis cutánea.

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, M^a. L. Bragulat, M^a. R. Cabañes, F.J. (1997) *Dermatophytes isolated from domestic animals in Barcelona, Spain*. Mycopathologia 137:107-113.
- Aikten, I.D. Martin, W. B. (2002) *Enfermedades de la oveja 2^a edición* Ed: Acribia. Página: 341. ISBN: 84-200-0987-3
- Allen, C.M. Sharman, W.M. Van Lier, J.E. (1999) *Photodynamic therapeutics basic principles and clinical*. Elsevier Science Ltd. 1359-6446/99/\$
- Baptista, M.S. Batista, D. Couto, H. de fatima, R. del giglio, A. Santos de oliveira, C. Santesso, D. Severino, D. Tardivo, J.P. (2005) *Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications*. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 2,175-91
- De La Paz, M.P. Gllaberte, Y. Pardo, J. Rezústa, A. (2013) *Terapia fotodinámica in vitro con hipericina en hongos causantes de micosis cutáneas*. Tesis doctoral.
- Guiavet* 13^a edición, (2013) Ed: Veterindustria, grupo Asís. ISBN: 978-84-92569-786
- Jungerman, P.F. Schawartzman, R.M. (1977) *Micología medica veterinaria*, Ed: E.C.S.A. Páginas: 17-42 ISBN: 78-157469
- De Carvalho, A.C. Vilas, S. WALLIS, L. (2012) *Distal and lateral toenail onychomycosis caused by Trichophyton rubrum: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye*. An Bras Dermatol. 2014;89(1):184-6
- Malone, A. Power, S.B. (1987) *An outbreak of ringworm in sheep in Ireland caused by Trichopyton verrucosum*. Veterinary Record 121,218-229
- Datos clínicos propios.

ASSESSMENT OF METHYLENE BLUE IN OVINE DERMATOMYCOSIS

SUMMARY

Dermatomycosis is a disease caused by fungus, generally by *Trichophyton* species, though other species may be involved. When talking about this pathology there is a significant problem: their lack of treatment, for that reason, new alternative therapies have emerged, for example, the treatment with methylene blue.

The aim of this issue is to prove the effect of methylene blue as a photodynamic agent in the photodynamic therapy as a treatment in a flock of sheep affected with dermatophytosis. For that reason we are going to use two different therapeutic protocols (weekly or two weekly applications with topical methylene blue). At the end of this study we can see that the treatment response was favorable in both cases, without differences between animals in relation to the resolution of skin lesions.

Key words: dermatomycosis, photodynamic therapy, ovine.

IMPROVEMENT OF BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS FOR INTRA-MAMMARY INFECTIONS AND CONTAGIOUS AGALACTIA IN SMALL RUMINANTS

BERGONIER, D.¹; PERENNES, S.²; TOTAIN, E.¹ and FOUCRAS, G.¹

¹University of Toulouse, National Veterinary School and INRA, F. 31076 Toulouse, France.

²Laboratory of Pyrenees, F 64150 Lagor, France.

ABSTRACT

The optimisation of udder pathogens detection is needed for both animal health management and milk bacteriological safety control. Several strategies are possible (PCR, sequencing, mass spectrometry,...), but real-time PCR is generally efficient (rapid, specific, sensitive) and easy to perform. By comparison with culture, we assessed a multiplex PCR for the detection of 11 mastitis causing bacteria, and a simplex PCR for the detection of *Mycoplasma agalactiae*, the agent of Contagious Agalactia. In both cases, these direct PCR proved to be more sensitive and rapid than conventional culture, and gave accurate quantitative results without amplification inhibition. When applied to routine diagnosis, the critical point remains the quality and representativeness of the individual or tank milk samples.

INTRODUCTION

During the last years, the need for improvement of knowledge and control programmes about intra-mammary infections has become more important as mastitis are related to important evolutions of the sheep/goats husbandry: development of milk bacteriological safety control, implementation of genetic resistance to mastitis, development of milk cellular quality payment and now implementation of plans for reduction of antibiotic use. For these different tasks, the use of valuable aetiological diagnostic tools is necessary. The cultural and phenotypic methods for bacteriological examination have been used for decades but may lack

of sensitivity (isolation) and accuracy (identification). Optimized direct, sensitive and exact methods are needed for bacteriological detection and specific identification.

In the Mediterranean countries, intra-mammary infections of small ruminants are mainly due to Gram-positive bacteria and Mycoplasmas. The 'classical' form of the Contagious Agalactia (CA) syndrome, due to *Mycoplasma agalactiae*, is present in sheep and/or goats in the majority of the Mediterranean countries. In France, CA is submitted to local (regional) regulations for control programmes in those regions where the syndrome is enzootic. Notification of the disease is compulsory. The control system relies on the exhaustive annual characterization of flocks infection status through bacteriological examinations of tank milk. The aim of this work was to assess PCR systems for the multiplex detection of Gram-positive and negative bacteria and, on the other hand, the simplex detection of *M. agalactiae* in milk.

MATERIALS AND METHODS

1. Bacterial intra-mammary infections: cultural techniques

In 30 French dairy flocks, milk samples (n=153) from individual mastitic udder halves were collected in a CA free area. Milks were frozen (20°C) after sampling. Bacteriological analyses were performed by conventional techniques according to the IDF guidelines with additions. Briefly, 100 µl were plated onto sheep blood trypticase soy agar and 100 µl was inoculated into a BHI broth (and then plated). All plates were incubated in normal and in CO₂-enriched atmospheres (37°C). For identification, the API system was used (BioMérieux, France).

2. Bacterial intra-mammary infections: multiplex real-time PCR

A commercially available real-time PCR system for the direct detection of bovine mastitis pathogens was used: PathoProof[®] (Thermo Fisher Scientific). The kit protocol involved 4 separate multiplex real-time PCR reactions targeting 11 bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Trueperella pyogenes/Peptoniphilus indolicus*, *Klebsiella spp.*, *Serratia marcescens* and the *blaZ* gene.

3. *Mycoplasma agalactiae* infection: cultural techniques

For qualitative results, bulk tank milk samples (n=130) were inoculated in broth Mycoplasma medium and incubated in CO₂-enriched atmospheres (37°C) during 3-5 days. Broth were sub-cultured in the

same medium for another 3-5 days. Final *M. agalactiae* detection was performed by PCR with *p30* and 16S rRNA gene primers (Fleury *et al.*, 2001) ('historical' technique of Pyrenees field laboratory).

For quantification, milk samples were inoculated with Mycoplasma broth into micro-plates with 5 replicates and decimal dilutions until 10^{-8} . Bulk milks originated from a group of 30 dairy ewe flocks sampled every month during the whole lactation campaign.

4. *Mycoplasma agalactiae* infection: simplex real-time PCR

Direct detection was performed in the same milk panel (n=130) by PCR using the *polC* primers (Marenda *et al.*, 2005). The exclusivity and inclusivity were assessed by testing a panel of 20 Mycoplasma reference strains, a panel of 15 non mycoplasmal milk isolates and, on the other hand, a panel of 10 *M. agalactiae* European isolates. The detection and quantification limits were evaluated with decimal dilutions after cultural titration.

RESULTS

1. Bacterial intra-mammary infections

1.1. Results of conventional bacteriological examinations

Figure 1 presents the isolation percentages of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Considering the contribution of BHI enrichment, *Staphylococcus spp.* detection frequency raises from 56 to 70%, and negative results diminishes from 18 to 3%.

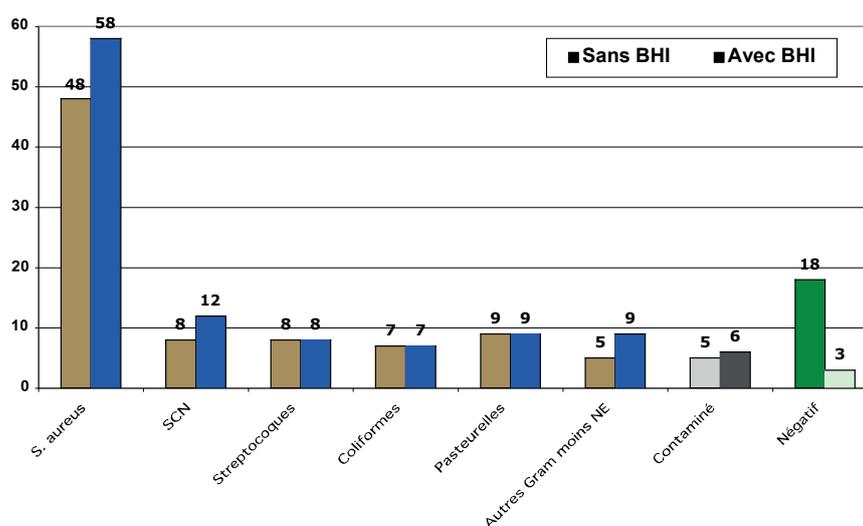


Figure 1. Percentages of bacterial isolates (conventional bacteriology) obtained with and without enrichment with brain-heart infusion (BHI). SCN: coagulase negative Staphylococci. NE: non Enterobacteria organisms.

1.2. Results of multiplex PCR

With the Pathoproof[®] kit applied on the same sample panel, the negative results scored 0% (culture: 3%), 1 detected bacteria scored 58 to 80% (culture: 81%), 2 bacteria scored 14-30% (culture: 10%) and 3 bacteria or more scored 6-12% (culture: 6%). These % ranges for positive PCR results are given according to the interpretation of CT data, respectively raw results and limitation to CT 30.

For *S. aureus*, we obtained a significant raise in positive results as 90% of the milks had a non-negative result ($p < 0.01$). Coliforms were detected in 7% of milks by culture and 9% with PCR. For the other organisms, the comparison was not fully possible as several species are not covered by primers in the current PCR system: *M. haemolytica*, *Streptococcus spp.* (particularly *Strep. suis*), etc. For *S. aureus*, samples that were negative by culture and positive by PCR had a lower bacterial load (CT 23.1 +/- 6.4) than samples positive for both methods (CT 17.5 +/- 6.0). No false negative reaction due to inhibition of amplification occurred.

2. *Mycoplasma agalactiae* infection

2.1. Validation of the direct simplex PCR

No *Mycoplasma* reference strains other than *M. agalactiae* nor bacterial isolates gave positive reaction with *polC* PCR. All *M. agalactiae* isolates gave positive results. The detection limit was 500 CFU/ml; the quantification limit was 12 CFU/5 μ l.

When comparing broth culture (2 times 3-5 days) and direct *polC* PCR amplification, 100 milks (respectively 114) tested positive out of 130. The respective distribution of CT was different, with 95% of reactions being < 20 for culture-*p30* PCR versus 81% ranging from 25 to 35 with *polC* direct PCR. The overall agreement between the 2 techniques was 88%.

2.2. Shedding kinetics of *M. agalactiae* in tank milks

Thirty asymptotically infected flocks were submitted to monthly quantification of viable organisms. In 80% of flocks, the shedding pattern was characterized by (1) an initial titre $< 10^7$ CFU/ml and (2) a steady decrease to $< 10^3$ CFU/ml. A minor pattern was also obtained with (1) high titres (until 5.10^9) at the beginning or end of lactation and (2) important fluctuations. The latter type was frequently associated with clinical relapses in first generations ewes. An association between the average titre and the length (duration) of infection was obtained.

DISCUSSION

1. Bacterial intra-mammary infections

The above data are dealing with compared sensitivity of optimised culture (high volume inoculums, enrichment, improved incubation, but -20°C freezing of milks) and one of the format of Pathoproof[®] targeting 11 bacteria. In these conditions, a definitive comparison of both techniques is not possible as several PCR primers are missing in this bovine version for full detection of ovine mammary pathogens. In spite of this, the PCR detected major pathogens (mainly *S. aureus*) in a large number of samples that were negative in culture or yielded minor pathogens; this result has also been obtained in bovine studies (for example Koskinen *et al.*, 2010). Interestingly, an association appeared between the PCR bacterial load and the positivity in culture. Milk immunity or inflammatory effectors may have played a role in the laborious or no growth of staphylococci from some mastitic milks. The high sensitivity of this PCR has been demonstrated, together with the relative difficulty in interpreting some of the raw results in case of multiple positivities from ovine milks.

We are currently continuing to evaluate the Pathoproof[®] PCR systems applied to other sets of small ruminants clinical and subclinical mastitis milks and, on the other hand, to assess the primers inclusivity and exclusivity for ovine bacterial strains. Increasing the number of targeted bacteria or adapting the primers set to the ovine-caprine pathogens would be advantageous. Direct PCR systems provide benefits over conventional bacteriology, including speed, identification accuracy and possible analysis of preserved milks or specimen from treated animals. Nevertheless, aseptic milk sampling procedure is a very important point to avoid false-positive amplifications. Bulk tank milks (or individual milk-recording samples) should not be analysed by multiplex PCR (except for *Mycoplasmas*). Both PCR and conventional bacteriology are advantageous and complementary for identifying mastitis bacteria in small ruminants; one has to adapt the detection strategy to the epidemiological situation, the analysis objectives and the quality of milk sampling.

2. *Mycoplasma agalactiae* infection

Advantages of the culture method may include augmentation of the organism titre for well- growing mycoplasmas, inhibitors dilution or a putative interest of viable organisms detection. Nevertheless, direct PCR proved to be highly specific (with *polC* primers), automated and rapid, easily performed without inhibition problems and sensitive. As *Mycoplasma* MIC determinations cannot be performed in routine, the unique remaining interest of culture would be the preservation of isolates for subsequent (network) virulotyping or antibiograms.

This direct PCR technique has been routinely used since 4 years in the frame of the official regulation for control of CA (Pyrenees).

The enumeration of viable organisms in tank milk according to the lactation stage was performed to address the questions of (1) CA contagiousness by milk and whey (dairies), (2) understanding of the infection dynamics as basis of control programmes implementation, and (3) sampling plan determination (date, repetitions). Interestingly, the main flock pattern is characterized by a decrease and often cessation of milk shedding over months or years (along with the disappearance of clinical expression), while the ELISA flock status remains positive (without vaccination). Series of quantification of tank milk shedding may help to manage/prevent the relapse or contagion risks.

CONCLUSION

Use of real-time PCR shortened the time for bacterial detection and the drawbacks of animals treatment or absence of samples preservation; it also increased the sensitivity. However, the overall efficiency depends on the validation of primers choice. One of the main advantages in the future will be the possibility in one multiplex reaction both to detect and characterize the bacteria.

Remaining limitations currently include the difficulty to differentiate contaminants from aetiological agents in mastitis and the necessity of amplifying a larger pathogen number or even to use open PCR systems and sequencing.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors acknowledge Thermo Fisher Scientific for the Pathoproof® kits.

REFERENCES

- Fleury B, Bergonier D, Berthelot X, Frey J, Viley E. Characterisation and Analysis of a Stable Serotype-Associated Membrane Protein (P30) of *Mycoplasma agalactiae*. *J. Clinical Microbiology* 2001; 39 (8), 2814-2822.
- Koskinen MT, Wellenberg GJ, Sampimon OC, Holopainen J, Rothkamp A, Salmikivi L, van Haeringen WA, Lam TJ, Pyörälä S. Field comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. *J Dairy Sci.* 2010; 93: 5707-15.
- Marenda MS, Sagné E, Poumarat F, Citti C. Suppression subtractive hybridization as a basis to assess *Mycoplasma agalactiae* and *Mycolasma bovis* genomic diversity and species- specific sequences. *Microbiology* 2005; 151(2): 475-89.

ANAPLASMOSIS EN VARIOS REBAÑOS OVINOS DE LA COMARCA DEL MATARRAÑA (TERUEL)

FANLO, T.¹; JIMENEZ, C.¹; LORENZO, M.¹; BOROBIA, M.¹; BENITO, A.²; LORENZO, N.⁴; MILLIAN, M.E.³ y LACASTA, D.¹

¹ Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

² EXOPOL Autovacunas y Diagnóstico. Pol. Río Gállego D/8, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza.

³ A.D.S Ovino Matarraña turolense, C/ Tarragona 1, 44580, Valderrobres, Teruel.

⁴ A.D.S Ovino-Caprino Bajo Aragón sección 2. Crta. Valmuel km. 2 44600. Alcañiz. Teruel.

RESUMEN

Se describe un caso clínico diagnosticado como anaplasmosis en la comarca del Matarraña (Teruel). Los animales presentaban sintomatología crónica inespecífica caracterizada por debilidad, anorexia, severa anemia, adelgazamiento progresivo, conjuntivitis y en ocasiones abortos y cojeras, afectando principalmente a ovinos de 1 a 3 años de edad. Tres ovejas de raza Rasa Aragonesa fueron enviadas al Servicio de Clínica de Rumiantes (SCRUM) del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza, ya que había una incidencia progresivamente alta y las pérdidas económicas producidas eran notables. Tras varias sospechas que resultaron negativas se llegó al diagnóstico definitivo gracias a un hallazgo casual de orina de color marrón-rojizo en una de las exploraciones diarias y que orientó el diagnóstico hacia un agente causante de hemólisis. Finalmente una visualización de frotis de sangre entera en la que se observaron cuerpos intraeritrocitarios, y una posterior PCR en tiempo real (qPCR) permitieron confirmar el diagnóstico de infección por *Anaplasma ovis*. Una vez conocido el agente causal se instauró un tratamiento experimental que demostró que la doxiciclina podría ser el antibiótico de elección frente a este proceso. Actualmente se sigue estudiando la enfermedad tanto a nivel de campo como experimentalmente.

INTRODUCCIÓN Y EXPLICACIÓN DEL CASO

Se describe un caso clínico que lleva ocurriendo desde el año 2012 en explotaciones semiextensivas ovinas de Rasa Aragonesa, Maellana y Ojinegra, situadas en la comarca del Matarraña (Teruel). El porcentaje de explotaciones afectadas es de un 33% (22/66). Los animales presentan un cuadro de debilidad, anorexia y pérdida crónica de peso. En ocasiones el cuadro se acompaña de conjuntivitis, cojeras y abortos. El porcentaje de animales con sintomatología no es alto, entre el 2-5% de todo el rebaño. Sin embargo, la morbilidad aumenta significativamente en animales entre 1-3 años de edad, sobre todo en los animales de primer parto, alcanzando en algunas explotaciones un 50% de afectados dentro de este grupo. Aunque pocos llegan a morir, el 80% de estos animales acaban teniendo que ser eliminados a consecuencia de la enfermedad.

El caso clínico comenzó a preocupar seriamente a ganaderos y veterinarios cuando se comenzaron a ver cuadros similares en varias explotaciones de la zona y no se relacionaba con problemas en el manejo o alimentación. Las necropsias realizadas en campo y en el Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, no mostraron ninguna lesión orientativa, siendo el único hallazgo relevante dilatación cardiaca y aplasia medular.

En el mes de marzo de 2014 son remitidas al Servicio de Clínica de Rumiantes de la Universidad de Zaragoza (SCRUM) tres ovejas procedentes de dos explotaciones afectadas. Se trata de animales de raza Rasa Aragonesa, con edades comprendidas entre 1-3 años. En el servicio se les realiza exploración clínica diaria, la cual no muestra ninguna sintomatología específica más allá de una extrema debilidad, caquexia, lesiones orales de carácter leve y conjuntivitis. Los animales presentan picos de fiebre leve. Diariamente, se controla el consumo de alimento para comprobar la alteración del apetito, y se observa que los animales más que anorexia, tienen «apetito caprichoso».

Dichos animales son mantenidos en cuarentena, periodo durante el cual se realizan diversas pruebas diagnósticas. Se lleva a cabo la toma de muestras mediante hisopos oculares, auriculares y nasales, líquido sinovial y lavados traqueobronquiales para realizar estudios mediante cultivo microbiológico y técnicas moleculares (enviados a EXOPOL Autovacunas y Diagnóstico y Laboratorio de Sanidad Animal del Gobierno de Aragón), con el fin de demostrar o descartar la primera sospecha que tuvieron los veterinarios de campo: Agalaxia Contagiosa. Esta enfermedad nunca ha sido descrita en la zona afectada, pero por la sintomatología observada (conjuntivitis y cojeras), la sospecha era fundada. Semanalmente se les extrae sangre entera para hematología y

suero para la realización de pruebas bioquímicas y se realizan análisis de orina (Laboratorio de Clínica Médica de la Facultad de Veterinaria). De esta primera batería de pruebas, el único resultado concluyente fue el aislamiento de *Branhamella ovis*, un patógeno secundario, en hisopos oculares. Las qPCR fueron negativas a *Chlamydomphila abortus* y a *Mycoplasma agalactiae*.

Las hematologías muestran una severa anemia de tipo normocítico y normocrómico y en la bioquímica aparecen los enzimas AST y GGT elevados, lo cual indica fallo hepático. Durante un urianálisis rutinario se encontró como hallazgo casual en uno de los animales una orina de color oscuro y turbio con presencia de bilirrubinuria, hemoglobinuria y proteinuria. Estos resultados ayudaron a reorientar el diagnóstico hacia el cuadro de anemia hemolítica detectado. En las posteriores hematologías se observa un agravamiento de la anemia.

Se realiza una extensión de sangre entera, que se tiñe mediante una tinción de panóptico rápido y se observa directamente al microscopio, detectándose la presencia de posibles formas compatibles con patógenos intraeritrocitarios. Basándonos en el cuadro hemolítico, la anemia normocítica y normocrómica y la presencia de formas anormales en los eritrocitos se decide realizar una qPCR (EXOPOL Autovacunas y Diagnóstico) sobre sangre periférica para detectar la posible presencia de *Anaplasma* sp. y/o Piroplasmas. Los resultados confirman la existencia de *Anaplasma* sp., que sí que podría dar un cuadro clínico compatible con el descrito. Una qPCR posterior certificó que la especie de *Anaplasma* presente en nuestros animales era *Anaplasma ovis*.

DISCUSIÓN

La inespecificidad del cuadro observado y la ausencia de lesiones anatomopatológicas orientativas dificultaron en gran medida el diagnóstico del proceso a nivel de campo. En un principio se podría pensar en un problema individual de la explotación debido por ejemplo a un mal manejo, mala alimentación, carencias nutricionales o problemas parasitarios. Sin embargo, cuando los veterinarios de campo empiezan a observar que se repiten los mismos síntomas en diferentes explotaciones a lo largo de toda la comarca es cuando realmente comprenden que se encuentran frente a un proceso transmisible. Las posibilidades de realización de una importante batería de pruebas diagnósticas que ofrece el SCRUM, a diferencia de lo que se puede realizar en ovino a nivel de campo, y la cooperación del laboratorio EXOPOL posibilitó llegar al diagnóstico final.

Anaplasma sp. es un género de bacterias gram negativas intracelulares obligadas (Rar & Golovljova, 2011) perteneciente al *Orden Rickettsiales*. Forma parte de la *Familia Anaplasmataceae*, que comprende cuatro géneros: *Anaplasma sp.*, *Ehrlichia sp.*, *Neorickettsia sp.* y *Wolbachia sp.* (Rymaszewska & Grenda, 2008). El género *Anaplasma sp.*, incluye seis especies y todos ellos son patógenos transmitidos por garrapatas, de interés tanto en salud humana como animal (Alessandra & Santo, 2012). En función de la especie de *Anaplasma* se ven afectadas un tipo de células sanguíneas u otras.

Centrándonos en nuestro caso de estudio, la Anaplasmosis Ovina es causada en la mayoría de los casos por *A. ovis* y en algunas ocasiones pueden intervenir *A. marginale* y *A. phagocytophilum* (Alessandra & Santo, 2012). *A. ovis* no ha sido tan estudiado como otras especies de *Anaplasma*, por lo que aún se desconoce bastante acerca de su epidemiología, patogenia y tratamiento. Ha sido encontrado en diferentes regiones del mundo como Portugal, Iraq, Turquía, Sudan, India, USA (Renneker *et al.*, 2013), en Centro Europa (Derdáková *et al.*, 2011; Víchová *et al.*, 2014) tick-borne fever (TBF, y España (Hurtado *et al.*, 2015), pero su aparición no siempre se relaciona con presencia de enfermedad.

Generalmente, esta enfermedad cursa con síntomas clínicos leves debido a su bajo poder patógeno, las formas agudas de enfermedad se han descrito asociadas a factores de estrés como: co-infecciones (por enfermedades transmitidas por garrapatas como *Babesia ovis*, *B. motasi*, *Theileria sp.*), manejos, elevada carga parasitaria por garrapatas, transporte de largas distancias, etc... (Alessandra & Santo, 2012; Renneker *et al.*, 2013).

La infección se hace visible al microscopio a las 2-6 semanas desde la transmisión. Dentro del eritrocito la bacteria se replica y sale de él utilizando un mecanismo no bien definido (pero aparentemente no lítico) para infectar nuevos eritrocitos. Durante la fase aguda, el número de eritrocitos infectados se incrementa al doble cada 24-48h. (Bautista G., 1996; OIE, 2012). La fase aguda de la enfermedad se caracteriza por una severa anemia, fiebre, pérdida de condición corporal, abortos, baja producción lechera, palidez de las mucosas y a menudo acaba con la muerte del animal. Hemoglobinuria e ictericia no suelen aparecer con frecuencia (Bautista G., 1996; Kocan, de la Fuente, Blouin, Coetzee, & Ewing, 2010; Yasini *et al.*, 2012). La severa anemia hemolítica es consecuencia de la respuesta inmune celular, no hay evidencias de hemólisis intravascular. Por un lado, la anemia es debida a la fagocitosis de los eritrocitos infectados por parte de los macrófagos del bazo, y en segundo lugar, por una destrucción inmunomediada tanto de eritrocitos

infectados como no infectados, en la que intervienen los linfocitos B que por medio de inmunoglobulinas de membrana, llevan a cabo una opsonización extravascular de los eritrocitos contribuyendo así a la fagocitosis (Bautista G., 1996; Yasini *et al.*, 2012).

Actualmente en España, los fármacos aprobados como tratamiento de la anaplasmosis ovina son la Oxitetraciclina IM a 20 mg/kg p.v. en dosis única o la Oxitetraciclina (Clorhidrato) oral junto con el pienso o agua a 0,2 - 0,4 g/kg p.v./día, en 2 dosis, durante 5 a 7 días. En el ganado bovino también está aprobado el Dipropionato de Imidocarb SC a 2,1 mg/Kg p.v. en dosis única, sin embargo no hay estudios de su eficacia en ovino. (*GuíaVet 2013-2014; Agencia Española del Medicamento*). El tratamiento antibiótico de la anaplasmosis es efectivo en una disminución del número de bacterias y una mejora de la sintomatología clínica, pero la eficacia en la eliminación de la infección y evitar que el animal quede como reservorio es variable (Suarez & Noh, 2011)are all transmitted by Rhiphicephallus (Boophilus.

Con los animales del estudio se realizaron varias pruebas usando diferentes antibióticos para observar la evolución de los animales. La Tilosina no ofreció ninguna mejoría aparente, así como tampoco lo hizo el tratamiento con Oxitetraciclina a las dosis recomendadas en la bibliografía. Finalmente optamos por iniciar un tratamiento con Doxiciclina, fármaco eficaz de elección para la anaplasmosis granulocítica humana (*Chochlaki, D., 2010*), en la anaplasmosis y ehrlichiosis en perros a dosis de 10mg/kg vía oral cada 24h durante 28 días (Little, 2010). Se decidió administrar 10 mg/kg IM durante 15 días, dando como resultados la recuperación clínica de los animales y de los parámetros hematológicos en dos meses y la confirmación mediante resultado qPCR negativo frente *Anaplasma sp* de muestras de bazo, médula ósea e hígado tras su sacrificio humanitario.

CONCLUSIONES

Anaplasma ovis es, posiblemente, un patógeno más extendido de lo que se cree y puede estar detrás de muchos procesos de clínica inespecífica que actualmente no son diagnosticados. Siendo que el vector biológico de esta enfermedad son las garrapatas, la lucha frente a ella se ha de basar en el control y prevención de las ectoparasitosis en el ganado ovino. Sin embargo, no debemos olvidar que otros vectores mecánicos como agujas, tábanos o mosquitos pueden jugar un papel importante en la difusión de la enfermedad.

En base a nuestra experiencia con esta enfermedad y a la de los ganaderos afectados, podemos decir que la doxiciclina podría ser el

antibiótico de elección. Sin embargo, entendemos que 15 días de terapia es demasiado prolongado para ganado ovino y estamos realizando estudios para comprobar hasta cuánto se pueden reducir los días de tratamiento, obteniendo resultados satisfactorios. No obstante, parece claro que una detección precoz de la enfermedad es clave para el éxito de la pauta terapéutica.

La anaplasmosis es una enfermedad que nunca ha sido descrita como causante de una clínica tan agresiva en nuestro país, por ello, estudios posteriores son necesarios para descartar la presencia de otros procesos concomitantes que agraven el cuadro. En la actualidad estamos llevando a cabo estudios epidemiológicos en la zona afectada, así como pruebas de tratamientos e infección experimental para incrementar el conocimiento de esta enfermedad de aparición súbita en la zona del Matarraña.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer en el presente trabajo la colaboración de la técnico de laboratorio, María Ángeles Lostao, así como la ayuda para la comprensión de la enfermedad de los especialistas en hemoparásitos de NEIKER-Tecnalia.

BIBLIOGRAFÍA

- Alessandra, T., & Santo, C. (2012). Tick-borne diseases in sheep and goats: Clinical and diagnostic aspects. *Small Ruminant Research*, 106(SUPPL.), S6–S11.
- Agencia Española del Medicamento y productos sanitarios: <http://www.aemps.gob.es/medicamentosVeterinarios/Med-Vet-autorizados/home.htm>
- Bautista G., C. R. (1996). La respuesta inmune celular en anaplasmosis bovina. *Ciencia Veteerinaria*, 7(24), 315–329.
- Chochlaki, D., (2010). Human Anaplasmosis and *Anaplasma ovis* Variant. *Emerg Infect Dis*. 2010 Jun; 16(6): 1031–1032.
- Derdáková, M., Štefančíková, A., Špitalská, E., Taragelová, V., Košťálová, T., Hrklová, G., ... Peťko, B. (2011). Emergence and genetic variability of *Anaplasma* species in small ruminants and ticks from Central Europe. *Veterinary Microbiology*, 153(3-4), 293–298.
- Guía VET (2013). Guía de productos zoonos sanitarios para animales de producción.. Editorial Grupo Asis, Zaragoza.
- Hurtado, A., Barandika, J. F., Oporto, B., Minguijón, E., Povedano, I., & García-pérez, A. L. (2015). Ticks and Tick-borne Diseases Risks of suffering tick-borne diseases in sheep translocated to a tick infested area : A laboratory approach for the investigation of an outbreak. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(1), 31–37.
- Kocan, K. M., de la Fuente, J., Blouin, E. F., Coetzee, J. F., & Ewing, S. a. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, 167(2-4), 95–107.
- Little, S. E. (2010). Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40(6), 1121–1140.

- OIE. (2012). Bovine Anaplasmosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, VI(May), 589–600.
- Rar, V., & Golovljova, I. (2011). Anaplasma, Ehrlichia, and “*Candidatus Neoehrlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(8), 1842–1861.
- Renneker, S., Abdo, J., Salih, D. E. A., Karagenç, T., Bilgiç, H., Torina, A., ... Seitzer, U. (2013). Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer? *Transboundary and Emerging Diseases*, 60(SUPPL.2), 105–112.
- Rymaszewska, A., Grenda, S. (2008). Bacteria of the genus *Anaplasma*—characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinarni Medicina*, 53(11), 573–584.
- Suarez, C. E., Noh, S. (2011). Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary Parasitology*, 180(1-2), 109–125.
- Víchová, B., Majláthová, V., Nováková, M., Stanko, M., Hviščová, I., Pangrácová, L., ... Peňko, B. (2014). *Anaplasma* infections in ticks and reservoir host from Slovakia. *Infection, Genetics and Evolution*, 22, 265–272.
- Yasini, S. P., Khaki, Z., Rahbari, S., Kazemi, B., Amoli, J. S., Gharabaghi, a., & Jalali, S. M. (2012). Hematologic and clinical aspects of experimental ovine anaplasmosis caused by *Anaplasma ovis* in Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 7(4), 91–98.

ANAPLASMOSIS IN SEVERAL SHEEP FLOCKS IN THE REGION OF MATARRAÑA (TERUEL, SPAIN)

SUMMARY

The present report describes a diagnosed case of anaplasmosis in the region of Matarraña (Teruel, Spain). Animals showed unspecific and chronic symptoms, along them there were weakness, anorexia, severe anemia, progressive weight loss, conjunctivitis and sometimes abortions and limp. This was happening mainly in 1 to 3 years old sheep. Three “*Rasa Aragonesa*” ewes were sent to the Small Ruminant Service of the Veterinary Faculty of Zaragoza (SCRUM), due to the progressively high impact and economic losses in order to obtain a diagnosis. After several negative suspicions, the definitive diagnosis was achieved thank you to an unexpected find. One urine analysis turned out to be brown-reddish colored, what made us think of some hemolytic microorganism was causing all symptoms. Finally, intraerythrocyte bodies observed in a blood smear and a positive qPCR confirmed our final diagnosis of *Anaplasma ovis*. Once known the agent, an experimental treatment with Doxycycline was established. It proved that Doxycycline could be selected as antibiotic treatment in front of this process. Nowadays, this illness is still being studied both in farms as at experimental research level.

NAVARRO, T.; LACASTA, D.; FERRER, L.M.; RAMOS, J.J; BUESO, J.P.; FIGUERAS, L. y MARTÍNEZ, M.

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

RESUMEN

La pseudotuberculosis o linfadenitis caseosa (LC), enfermedad causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, es una patología que genera un cuadro de curso crónico y no siempre detectable a simple vista, lo cual dificulta con frecuencia la detección precoz del problema dentro del rebaño. Las lesiones de LC se corresponden con dos tipos de presentaciones: la superficial, afectando a linfonodos subcutáneos, y la visceral, afectando órganos y linfonodos internos.

La presente comunicación muestra los resultados obtenidos durante los años 2013 y 2014 en el Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Sobre un total de 132 animales se observó la presencia de LC en el 28% de los casos. La forma visceral fue observada con mayor frecuencia, estando presente en el 70% de las ocasiones. A su vez, dentro de los cuadros de tipo visceral, la afección de los linfonodos mediastínicos fue la más habitual, afectando al 58% de los animales. Los resultados obtenidos obligan a considerar la existencia de un posible infradiagnóstico de la enfermedad a nivel de campo, lo que repercutiría a la hora de valorar las causas de desvío de un rebaño, así como las pérdidas generadas por esta patología en el matadero, como consecuencia de los decomisos.

Palabras clave: Linfadenitis caseosa, diagnóstico, presentación visceral

INTRODUCCIÓN

La linfadenitis caseosa (LC) es una patología extendida a nivel mundial en los rebaños de pequeños rumiantes. *Corynebacterium pseudotuberculosis* genera lesiones de necrosis caseosa en distintas localizaciones del organismo. En función de la localización de las lesiones, se diferencian dos tipos de presentación: la superficial, afectando a linfonodos subcutáneos principalmente, y la visceral, lesionando linfonodos viscerales y el parénquima de algunos órganos (Fontaine *et al.*, 2008). El diagnóstico clínico de la primera no comporta dificultades, ya que los abscesos de material necrótico suelen ser apreciables a simple vista. Las presentaciones viscerales, sin embargo, se mantienen ocultas, a no ser que alteren la función de órganos importantes u obstruyan conductos que deriven en una clínica aparente. Este hecho es el que favorece la persistencia de la enfermedad en el rebaño, como una patología crónica a la que apenas se le presta atención.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (SCRUM) se reciben animales procedentes en su mayoría de explotaciones de ovino de carne de carácter semi-extensivo, con un tamaño medio de 700 cabezas de ganado por explotación. Dentro de los animales que ingresan en el servicio se encuentran, por un lado los animales de desecho, cedidos por las ganaderías para su uso docente, y por otro los casos clínicos remitidos por veterinarios de la zona para su diagnóstico. Esto supone trabajar con una muestra sesgada: por un lado llegan animales que el ganadero considera que han terminado su vida productiva por distintos motivos (patologías crónicas o falta de producción), y por otro, los animales remitidos, llegan con un determinado problema patológico (generalmente grave) para su resolución. Por tanto, al tratarse de animales de desvieje o enfermos, esto no constituye una muestra representativa de la patología del rebaño, aunque sí supone una valiosa fuente de información acerca de las enfermedades más habituales en los rebaños locales y de cuáles son las causas patológicas que inducen a eliminar de la explotación animales que no tendrían por qué haber acabado su vida productiva todavía.

Los animales son recibidos en el servicio y se les realiza una rigurosa exploración clínica para determinar su estado general. A continuación se toman las muestras requeridas en cada caso para realizar las pruebas diagnósticas pertinentes. De manera rutinaria se realiza un análisis hematológico de todos los animales, además de otras pruebas complementarias que puedan ser necesarias. El diagnóstico se completa

con la necropsia del animal y las muestras recogidas durante la misma. Este proceso diagnóstico supone un estudio riguroso de cada individuo con el que se detectan patologías que se hallan muy presentes en el rebaño, pero que no suelen ser causa de muerte. Estas patologías pueden provocar pérdidas productivas importantes, quedando en muchas ocasiones enmascarado su diagnóstico por ser animales cuyo destino final sería el matadero.

Los casos de LC reportados en este estudio fueron detectados en el diagnóstico anatomopatológico mediante la observación de lesiones compatibles y han sido confirmados a través de la toma de muestras de las lesiones presentes en los animales, de las que se ha realizado posteriormente el cultivo microbiológico. Dicho cultivo ha sido realizado en agar sangre Columbia (BioMérieux España S.A.) e incubado en condiciones de aerobiosis y en atmósfera enriquecida con CO₂ (estufa de cultivo con CO₂ al 10%), durante 48h a 37°C. Para la identificación de la bacteria se ha empleado el sistema comercial API[®] Coryne (BioMérieux España S.A.) (Système D'Identification des bacteries Coryneformes), siguiendo las instrucciones del fabricante.

El análisis de los datos ha sido realizado posteriormente a través del programa *Paquete estadístico SPSS 20.0*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de animales recibidos en el servicio en los años 2013 y 2014, 132 casos han completado el proceso diagnóstico con un examen postmortem. Los resultados expuestos a continuación han sido confirmados tras el cultivo y aislamiento de *C. pseudotuberculosis* en las muestras recogidas. El análisis de los resultados se ha realizado de manera global para ambos grupos de animales, incluyendo los casos remitidos y los animales de desecho. Así pues, del total de animales examinados, un 28.2% presentaron lesiones compatibles con LC. Estos datos son similares a los obtenidos por Al-Gaabary *et al.* (2009) en los estudios que realizaron en matadero, donde obtuvieron una prevalencia del 22.1% en ovino. En otro estudio de matadero publicado por Fábregas *et al.* en 2005, la causa más importante de “no aptitud parcial” de la canal en ovino ≥ 12 meses resultó ser la linfadenitis caseosa, afectando a un 33% del total de canales con decomisos parciales.

Del total de lesiones observadas, el 30.0% correspondían a la forma superficial de la enfermedad, mientras que la forma visceral estuvo presente en el 70.0% de los casos. En las formas viscerales de la enfermedad, los linfonodos mediastínicos se han visto afectados en

el 57.1% de las ocasiones, y como lesión única en el 48.0% de los animales. Esto supone que este linfonodo es el que se ve afectado con mayor frecuencia, de acuerdo con los resultados obtenidos por Baird *et al.* en 2007. Por otro lado, la lesión del parénquima pulmonar se ha observado en un 23.8% de los afectados, y en un 19.0% se daba como lesión única. La localización multiorgánica también se da con relativa frecuencia, en el 28.6% de los animales, encontrándose en varios puntos simultáneamente y afectando órganos como el riñón, el hígado o la base del corazón. Finalmente, la localización mesentérica se ha observado en menos ocasiones, con una incidencia del 9.5%.

Entrando a valorar las presentaciones superficiales, la afectación del linfonodo preescapular es la que se observa un mayor número de veces, con un porcentaje del 44.4% sobre el total de animales con lesiones superficiales. Este resultado es superior al obtenido por Al-Gaabary *et al.* (2010) en su estudio en matadero, donde obtenían un 21.2% de afectación sobre este linfonodo. El siguiente punto más afectado es el linfonodo mamario, con un 33.3% de incidencia. Este es otro de los puntos habituales de lesión como así lo corroboran autores como Burrell (1981) y Pepin *et al.* (1994). Los linfonodos retrofaríngeo y precural se vieron afectados en un 22.2% y un 11.1% de las ocasiones, respectivamente. Es preciso matizar que la presentación superficial de la enfermedad se encuentra con mayor frecuencia en animales jóvenes (Brugère-Picoux, 2004; Lloyd, 2000), sin embargo, la media de edad de los animales que se reciben en el centro, es media (5,2 años). Este factor ha de ser valorado a la hora de analizar los datos obtenidos.

Otro dato relevante que arroja el presente estudio es que en el 47% de los casos con LC que presentaban la forma visceral, esta suponía la principal enfermedad del animal, siendo probablemente la causa que llevó a su desecho. Sin embargo, esto ocurría solo en 14% de los casos en que se daba la forma superficial en los animales presentes en nuestro estudio. Los resultados obtenidos en este estudio guardan similitud con los obtenidos por otros autores y denotan la amplia distribución de la enfermedad, presente en un gran número de rebaños de nuestro país, como también lo corroboran distintos estudios realizados en matadero.

CONCLUSIONES

Aunque la presentación superficial de la LC es fácilmente diagnosticable, la forma visceral precisa, generalmente, un examen post-mortem del animal para ser detectada, es decir, su diagnóstico se realiza bien en necropsia o bien en las inspecciones de matadero. Por tanto, nos encontramos ante una enfermedad infradiagnosticada y, en

consecuencia, minusvalorada en sus efectos. Casi en la mitad de los animales que padecían la forma visceral de la enfermedad, ésta cursaba como enfermedad principal, es decir, fue la patología que motivó la retirada de estos animales de la vida productiva.

BIBLIOGRAFÍA

- AL-Gaabary, M.H., Osman, S.A., Oreiby, A.F., 2009. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. *Small Rum Res* 87, 116–121.
- AL-Gaabary, M.H., Osman, S.A., Ahmed, M.S., Oreiby, A.F., 2010. Abattoir survey on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. *Small Rum Res* 94, 117-124.
- Baird, G.J., Fontaine, M.C., 2007. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *J Comp Pathol* 137 (4), 179–210.
- Brugère-Picoux, J., 2004. Maladie (Lymphadénite) Caséuse. En: *Maladies des moutons*, 2^a ed. Éditions France Agricole, Paris, 2004.
- Burrell, D.H., 1981. Caseous lymphadenitis in goats. *Australian Vet J*, 57, 105-110.
- Fábregas, X., Simón, J.A., Canada, L., 2005. Resultados de la inspección veterinaria ante y post-mortem en un matadero de bovino, ovino y caprino. *Eurocarne*, N° 33, 1-10.
- FONTAINE, M.C., BAIRD, G.J., 2008. Caseous lymphadenitis. *Small Rum Res* 76, 42-48.
- Lloyd, S., 2000. Linfadenitis caseosa en ovejas y cabras. En: Melling, M., Alder, M. (Eds.), *Práctica ovina y caprina*, pp 165-174. Ed Inter-Médica, Buenos Aires, 2000.
- Pepin, M., Paton, M., Hodgson, A.L., 1994. Pathogenesis and epidemiology of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep. *Curr Top Vet Res* 1, 63–82.

PSEUDOTUBERCULOSIS: RETROSPECTIVE SURVEY

SUMMARY

Caseous lymphadenitis (CLA) or Pseudotuberculosis, caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis*, is a chronic disease that cannot be always detected on initial examination. Depending on its presentation, it can be in superficial or visceral form. The latter can imply some problems on the early diagnosis of the disease in the herd. A full diagnosis of all the animals that comes to the service is done by the Ruminant Clinic Service of the Veterinary Faculty of Zaragoza (Spain). The process is composed of clinical examination, sample collection, and post mortem exam with additional collection of samples and anatomopathological diagnosis. All data resulting from these studies has been statistically analysed. As a result, a high prevalence of CLA in examined animals has been detected. The majority of them presented visceral form of CLA, without any external signs. The possibility of underdiagnosis concerning this pathology should always be considered, especially due to the lack of symptoms in so many cases. Decreasing productivity rates and abattoir condemnation are the consequences from this underdiagnosis.

Key words: Caseous lymphadenitis, diagnosis, visceral presentation.

¿ES EL PULMÓN UN ÓRGANO MENTIROSO? ESTUDIO CLÍNICO SOBRE LA CONCORDANCIA ENTRE AUSCULTACIÓN Y LESIÓN

SAURA, F.¹; NAVARRO, T.¹; RIVERA, J.¹; RAMON, S.¹; DE LAS HERAS, M.²
y LACASTA, D.¹

¹Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

²Unidad de Histología y Anatomía Patológica (departamento de Patología Animal) – Facultad de Veterinaria de Zaragoza. c/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

RESUMEN

Sabiendo que la patología respiratoria es uno de los puntos de inflexión en las ganaderías del ovino español, se lleva a cabo un estudio de las enfermedades del aparato respiratorio halladas en las ovejas remitidas al Servicio Clínico de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Se recalca la importancia de la exploración clínica de los animales con procesos respiratorios y se observa que con dicho examen clínico, muchas veces no es suficiente. Por ello será necesario ayudarse de pruebas complementarias que confirmen de forma más precisa el diagnóstico, ya que únicamente mediante la estetoscopia se demuestra el establecimiento de un gran número de diagnósticos equívocos.

Palabras clave: Patología respiratoria, auscultación, neumonía, SCRUM.

INTRODUCCIÓN

Los procesos respiratorios son la principal patología presente en ganado ovino adulto (Zachary *et al.* 2012), ya que provocan una alta morbilidad y mortalidad. A la vez, son una fuente muy importante de pérdidas productivas y siempre suponen un mayor coste veterinario y farmacológico, además de un compromiso para el bienestar animal, aunque no siempre sean causa de muerte (Chakraborty *et al.* 2014).

Clásicamente, los métodos de diagnóstico utilizados para la detección de estas patologías han sido la exploración clínica, principalmente mediante auscultación pulmonar (Ferrer, *et al.* 2007), sin embargo, basándonos en nuestra experiencia clínica y en la bibliografía encontrada (Scott *et al.*, 2009; Scott, 2013; Buczinski *et al.*, 2014; Monsalve *et al.*, 2015), decidimos realizar este estudio para comprobar si, efectivamente, estas pruebas son concluyentes para elaborar un correcto diagnóstico clínico. Estos autores citan la necesidad de desarrollar pruebas complementarias, como radiografía o ecografía y necropsia (NADIS, 2015) de alguno de los animales afectados para llegar a un correcto diagnóstico. Aunque un solo agente pueda ser el invasor primario, la mayoría de las infecciones respiratorias se complican por la acción de gérmenes secundarios u oportunistas (Martin, 1983), por tanto las patologías respiratorias dependerán tanto de factores externos como del status sanitario del animal.

En el presente trabajo hemos analizado los casos de patología respiratoria en ganado ovino adulto recibidos en el Servicio Clínico de Rumiantes (SCRUM) de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, relacionando la exploración clínica y auscultación con lo observado en la necropsia. Al mismo tiempo analizaremos el tipo de lesiones pulmonares halladas y su posible relación con las causas patológicas más probables.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el SCRUM de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza se reciben anualmente óvidos de municipios de la comunidad autónoma de Aragón. Proviene, principalmente, de explotaciones de tipo semi-extensivo cuyo tamaño medio de los rebaños es de 600-800 ovejas.

Parte de los animales que ingresan en el servicio, vienen de casos clínicos remitidos por veterinarios de A.D.S. para su diagnóstico. Y otra parte son animales de desecho, cedidos por las ganaderías para su uso docente y gracias a los cuales los ganaderos obtienen un feedback sobre las principales patologías que afectan a sus rebaños. Esto supone que tratamos con dos grupos diferenciados. El primero lo componen animales que llegan con un determinado problema patológico (generalmente grave) para su resolución. Y el segundo está formado por animales de distintas edades que han terminado su vida productiva por distintos motivos (patologías crónicas o falta de producción). Es importante matizar que al tratarse de animales de desveje o enfermos, esto no constituye una muestra representativa de la patología del rebaño, sin embargo, supone una valiosa fuente de información acerca de las enfermedades más habituales en los rebaños locales y de cuáles son las causas patológicas

que inducen a eliminar de la explotación animales que de otro modo, no tendrían por qué haber acabado su vida productiva. La media de edad de estos animales de “desvieje” es de 5 años.

Todos los animales recibidos en el SCRUM son llevados a cuarentena donde se les realiza una exploración clínica completa con toma de muestras de sangre para su análisis hematológico. Además, se lleva a cabo la anamnesis del caso clínico, si éste ha sido remitido por un veterinario. A partir de ahí y dependiendo de la sospecha clínica, se tomarán las muestras clínicas necesarias y se realizarán las pruebas complementarias pertinentes. Si el caso lo requiere, se procede al sacrificio humanitario de los animales con pentobarbital sódico 0.2 mg/ml (10 ml iv) para completar el diagnóstico sirviéndose de la necropsia y de las analíticas pertinentes realizadas a partir de las muestras recogidas durante la misma.

En el presente trabajo, hemos recogido datos de los animales que presentaban sintomatología respiratoria y que se recibieron en el SCRUM, durante los cursos académicos 2013-14 y 2014-15, en los que se realizó la necropsia para completar su diagnóstico. En total se han analizado 70 animales de diferentes edades, procedentes de diferentes rebaños, pero todos ellos de la raza Rasa Aragonesa. A estos animales se les realizó una exploración clínica completa y un estudio anatomopatológico macroscópico e histológico en la Unidad de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

El tipo de lesiones pulmonares halladas han sido clasificadas en función de lo descrito por Zachary *et al.* en 2012 según se cita a continuación:

1. Neumonías productivas

Neumonía supurativa (ó catarral-purulenta): es un tipo de neumonía en la que se haya en el interior de los bronquios un exudado purulento en el caso de ser aguda, o muco-purulento si se trata de un caso crónico. Normalmente, se halla en la parte cráneo ventral de los pulmones, y es de consistencia firme. Los patógenos encontrados con más frecuencia son *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas* y *Mannheimia haemolytica*.

Neumonía gangrenosa: se desarrolla a partir de la introducción de materiales extraños en los pulmones, desviados desde el esófago y con material saprofita o de putrefacción, denominándose también como neumonía por aspiración. O bien, por microorganismos patógenos muy virulentos. El área afectada se sitúa alrededor de un bronquio o bronquiolo mostrando un color rojo oscuro o negro (Chamizo, 1995) y en la superficie de corte se hallará un exudado de tipo mucosanguinolento espumoso. En tipo de microorganismos encontrados serán los

habituales de contaminación ambiental: *Arcanobacterium pyogenes*, *G° Streptococcus* y *G° Staphilococcus*.

Neumonía fibrinosa: es una neumonía con distribución cráneo-ventral que origina un pulmón de consistencia firme o dura. Es producida por bacterias, entre las que destaca la *Mannheimia haemolytica* (Zachary *et al.* 2012), toxinas e incluso, por aspiración de materiales. Se presenta clínicamente con depósitos de fibrina en la superficie del parénquima, y en el caso de ser de tipo crónico se hallará un tipo de neumonía denominada fibrosa.

Neumonía granulomatosa: caracterizadas por una distribución multifocal, con una textura nodular y con una vía de entrada aerógena o hematógena. Se caracteriza porque los organismos o las partículas no pueden ser eliminados por los fagocitos y provocan una inflamación local con macrófagos alveolares e intersticiales, linfocitos y neutrófilos (Zachary *et al.* 2012). El origen reside en bacterias como las del genero *Mycobacterium* spp., parásitos del tipo *Dyctiocaulus filaria* o *Protostrongilus* (neumonías verminosas), micosis...

2. Neumonías No productivas

Neumonía intersticial: se describe mediante una localización difusa y una textura del pulmón elástica. Es debida a un daño en la pared alveolar, tanto en el endotelio como en los neumocitos. Se produce un engrosamiento de las paredes alveolares, y en algunos casos una introducción de tejido linfoide en el espacio intersticial. Por todo ello, se presentará un pulmón aumentado de tamaño y cuyo problema puede ser causado por virus, como el Maedi Visna (Rodriguez *et al.* 2012, Gonzalez *et al.* 1995) y bacterias como el *Mycoplasma ovipneumoniae* (Bell *et al.* 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 70 animales en los que en el momento de la exploración clínica y auscultación pulmonar presentaban algún tipo de sintomatología compatible con patología de tipo respiratorio, únicamente 48(68,57%) se corroboraron luego en la necropsia. Según cita Buczinski *et al.* (2014), en un estudio realizado sobre 106 terneros en el que realizaron la correlación entre auscultación y lesión pulmonar, únicamente obtienen un 5,9% de sensibilidad en la auscultación. Otros trabajos hablan de la dificultad para detectar patología respiratoria en ovino y vacuno únicamente mediante el uso del fonendoscopio (Scott *et al.* 2009; Scott, 2013; Monsalve *et al.* 2015).

De los 48 animales con lesión pulmonar había 6 con más de un tipo de neumonía, de modo que de los 54 procesos neumónicos hallados: 14 casos (25,93%) presentaron una neumonía de tipo intersticial compatible con la enfermedad de Maedi Visna; 9 ovejas (16,7%) tenían lesiones de tipo granulomatoso causadas por vermes pulmonares (*Protostrongilus* y *Dictyocaulus*), un 14,81% (8 casos) mostraron neumonía gangrenosa, 10 pulmones tenían neumonía fibrinosa/fibrosa (18,52%) y un 20,37% (11/54) neumonías de tipo catarral-purulento. Se ha podido ver también, que el Adenocarcinoma Pulmonar Ovino no es de las patologías con más incidencias, pues hemos hallado sólo un 3,70% (2 casos).

CONCLUSIONES

La patología de tipo respiratorio es una de las principales causas de mortalidad y pérdidas económicas en el ganado ovino, tanto en corderos, como en animales adultos. Sin embargo, uno de los handicaps que se encuentra es la dificultad de diagnóstico que presenta por parte de los veterinarios y de detección por parte de los ganaderos. De forma clásica se ha usado la exploración clínica y la auscultación pulmonar como método de diagnóstico clínico para detectar patología respiratoria, sin embargo, son muchos los autores que hacen alusión a la dificultad de realizar un correcto diagnóstico mediante estas técnicas, siendo necesario el uso de pruebas complementarias.

Con el presente estudio hemos corroborado la dificultad de diagnóstico clínico basado únicamente en la exploración tradicional y la necesidad de poner en uso otras técnicas complementarias. No obstante, creemos que es necesario realizar una exploración clínica completa, así como una auscultación detallada del pulmón, completando el diagnóstico con el uso del ecógrafo, tan presente entre las herramientas básicas de los veterinarios clínicos de campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bell, S., 2008. Respiratory Disease in Sheep. (In Practice 2008, vol.200 pg.200-207).
- Buczinski, S., Forte, G., Francoz, D., Belanger, AM., 2014. Comparison of Thoracic Auscultation, Clinical Score, and Ultrasonography as Indicators of Bovine Respiratory Disease in Preweaned Dairy Calves. Journal of Veterinary Internal Medicine, vol.28 num.1 – pg.234-242.
- Chakraborty, S., 2014. Advances in Diagnosis of Respiratory Diseases of Small Ruminants. (Hindawi Publishing Corporation, Veterinary Medicine International. Vol.2014 - ID: 508304).
- Chamizo, E.G., 1995. Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos. Universidad Autónoma de la Baja California. Pg.44.

- Ferrer, L.M., Ramos, J.J., 2007. La exploración clínica del ganado ovino y su entorno. Ed. Servet.
- Gonzalez, L., Ruiz, A., 1995. Maedi/Visna: una importante enfermedad ovina y su control (monografía), SIMA-CIMA y CSIC.
- Monsalve, B., Blanco, J., San Miguel, J.M., Re, M. 2015. Lung ultrasound as a diagnostic and prognostic method of respiratory diseases. Presentation in XX congress ANEMBE 2015, Burgos(Spain). (Libro de Ponencias pg.199-200).
- Respiratory Disease in Adult and Yearling Sheep.NADIS (National Animal Disease Information Service), 2015.
- Rodriguez, N., 2012. Tesis doctoral: “MaediVisna en el ganado ovino de Galicia: Análisis de factores de riesgo como aproximación a su control”. Facultad de Veterinaria de Lugo, USC.
- Scott, P., Colli, D., McGorum, B., Sargison N., 2009. Relationship between thoracic auscultation and lung pathology detected by ultrasonography in sheep.(The Veterinarian Journal 186 – pg.53-57).
- Scott, P., 2013. Ultrasonographic findings in adult cattle with chronic suppurative pneumonia.In practice, vol.35 num.8.
- WB Martin, 1982. Respiratory diseases induced in small ruminants by viruses and mycoplasma. (Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties-París).
- Zachary, J.F., McGavin, M.D., 2012. Pathology Basis of Veterinary Disease. Ed. Elsevier, 5th edition. Pg. 494-502 y 516-518.

IS THE LUNG A LYING ORGAN? CLINICAL STUDY ON THE CORRELATION BETWEEN AUSCULTATION AND LUNG INJURY

SUMMARY

Knowing that respiratory pathology is one of the turning points in the Spanish sheep livestock systems, a study of the respiratory diseases was carried out by the Ruminant Clinic Service of the Veterinary Faculty of Zaragoza (Spain). In this study the importance of the clinical examination of animals with respiratory processes is emphasized, reaching to a conclusion that is often not enough. Thus far, it will be necessary to look for additional tests to get a more accurate diagnosis since auscultation has proven misdiagnose.

Key words: Respiratory Pathology, Auscultation, Pneumonia, SCRUM

PRINCIPALES CAUSAS DE DESECHO EN EL GANADO OVINO DE CARNE DE LA PROVINCIA DE ZARAGOZA

JORBA, M.¹; ORTÍN, A.¹; NAVARRO, T.¹; MARTINEZ, M.¹;
FIGUERAS, L.^{1,2}; LACASTA, D.¹; RAMOS, J.J.¹ y FERRER, L.M.¹

¹Servicio de Clínica de Rumiantes (SCRUM). Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

²Gabinete Técnico Veterinario. Isla Conejera sn. Zaragoza (España).

RESUMEN

El desecho es una práctica habitual entre los ganaderos que tiene como objetivo reducir las pérdidas económicas derivadas de la baja productividad de los animales y mejorar el estado sanitario del rebaño. El objetivo de este trabajo ha sido determinar las principales causas de desecho en el ganado ovino de carne. El estudio se ha centrado en los sistemas de producción intensivos y semintensivos en la provincia de Zaragoza y se ha basado principalmente en la información obtenida en el Servicio de Clínica de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria durante los cursos 2013-14 y 2014-15. La media de edad de los animales de este estudio fue de 5,5 años. Solo en el 3% de los casos se encontró una causa única para el desecho, siendo lo más frecuente encontrar dos (33%) o tres causas (48%). Por sistemas, los más afectados fueron el reproductor, incluyendo las mamas, (60%), seguido del respiratorio (39,7%) y digestivo (32,9%). En cuanto a las patologías diagnosticadas, en las hembras destacan las mamitis (31,7%), la pseudotuberculosis (20,6%), el Maedi-Visna (20%) y otras neumonías (25,4%), mientras que en los machos solo se encontraron lesiones en los testículos o el pene. Por edades, el sistema reproductor sigue siendo el más afectado en todos los rangos de edades, excepto en el de 1-3,9 años, que es superado por el sistema digestivo y respiratorio.

Palabras clave: desecho, ovino de carne, sistema de producción intensivo o semintensivo.

INTRODUCCIÓN

Se conoce como desecho (desvieje, en términos ganaderos) a la práctica consistente en eliminar periódicamente del rebaño a los animales que presentan una baja producción, bien debido a una edad avanzada o a otras causas. Esta operación suele ser realizada por el ganadero y tiene como objetivo reducir las pérdidas económicas derivadas de mantener animales con una baja productividad, a la vez que se mejora el estado de salud del rebaño (Filley, 2009). En el ganado ovino pueden aplicarse diversos criterios a la hora de realizar el desecho, que dependen del sistema de explotación (intensivo o extensivo), raza del animal, clima y terreno de la zona y del producto final que se pretende obtener: carne, leche o lana (Fernández, 2013). El clima y la geografía son factores determinantes en la aparición de las enfermedades que pueden afectar a los animales, ya que ciertos niveles de humedad, temperatura o las duraciones de las estaciones pueden favorecer el desarrollo de ciertos parásitos y otros organismos (Alcaide *et al.*, 2004). Por otro lado, cada sistema de explotación tiene unas enfermedades que aparecen con mayor frecuencia que otras, debido al tipo de manejo de los animales. Así, por ejemplo, en un sistema intensivo pueden aparecer más procesos respiratorios debido al confinamiento de los animales (Ramos y Ferrer, 2007), mientras que en un sistema extensivo tienen mayor repercusión los problemas locomotores, como el pederero (Martin *et al.*, 2002), que pueden limitar la salida de los animales al pasto. Lo mismo sucede en cuanto al tipo de producción, de forma que las mamitis tienen una gran importancia en el ovino lechero ya que pueden provocar un descenso importante en la producción de leche (Martin *et al.*, 2002). En cambio, esta misma patología en un rebaño de carne no tiene el mismo protagonismo, ya que el cordero es el producto final y en el caso de que la oveja tenga poca leche puede ser alimentado con leche artificial.

No hay que confundir o relacionar el término desecho con la edad de las ovejas. Aunque a menudo la edad avanzada del animal tiende a ser un factor importante al realizar el desecho (Mcneal, 2000), son realmente las enfermedades que afectan a la producción del ganado, y que también pueden tener incidencia en las ovejas de menor edad, las que se consideran determinantes para hacer la selección.

El trabajo que presentamos tiene como objetivo principal realizar una valoración de las principales causas que determinan el desecho en el ganado ovino de carne, explotado de forma intensiva o semiintensiva, en la provincia de Zaragoza. Se corresponde con el Trabajo Fin de Grado de la primera firmante, para acceder al título de graduado en Veterinaria por la Universidad de Zaragoza. Con este estudio se pretende determinar las causas más importantes de desecho, teniendo en cuenta el aparato

afectado y las patologías observadas y cuantificar su proporción de forma global y en función de la edad de los animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha basado principalmente en la información obtenida a partir del registro e historial de los casos ovinos recibidos en el Servicio de Clínica de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza durante los cursos 2013-14 y 2014-15. Muchos de estos casos son ovejas de desecho procedentes de distintas explotaciones de la zona, que se destinan a la docencia práctica en la Facultad. En este estudio se ha incluido a 73 de estos animales, de edades muy variadas superiores a los 6 meses (momento en el que se incorporan al rebaño). Cada uno de ellos tenía una ficha clínica donde se recogía su reseña, los datos obtenidos de la exploración del animal, los resultados de las pruebas analíticas y complementarias realizadas, el diagnóstico diferencial y en su caso el definitivo, el tratamiento aplicado y sus resultados. Asimismo, y para llegar a un diagnóstico lo más certero posible, todos los animales eran finalmente sacrificados y se realizaba la necropsia con la correspondiente toma de muestras y análisis pertinentes.

Esta información se ha complementado con la realización de encuestas a ganaderos de la zona en las que se les preguntaba si hacían o no algún tipo de desecho, cuantos en un año, en que época y la razón, y sobre las causas más frecuentes que motivaban la selección, así como la edad de los animales seleccionados. También se han obtenido datos de la exploración *in vivo* y de vísceras en el matadero, a partir de un grupo de ovejas seleccionadas en una de las tandas de desecho de dos explotaciones importantes de la zona.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya se ha comentado en el apartado de la introducción, el término desecho no hace referencia directa a la edad de las ovejas seleccionadas, sino que tiene un significado mucho más amplio. La edad avanzada suele ser un factor importante, pero el factor determinante es la presencia de patologías que inciden en el rendimiento productivo de los animales y que pueden también afectar a las ovejas de menor edad. Los resultados de este trabajo lo corroboran. Así, la media de edad de los animales incluidos en el estudio se situó en torno a los 5,5 años, y solo un 24,7% de ellos superaban los 8 años, edad a la que una oveja de carne en este tipo de sistemas productivos puede considerarse como vieja.

Un dato que puede llamar la atención es el porcentaje elevado de machos (15,07%) teniendo en cuenta que su presencia en los rebaños no supera el 5%. No obstante, esta desviación no puede considerarse que tenga ningún significado especial ya que simplemente es consecuencia de la búsqueda dirigida a la obtención de un número adecuado de machos para cubrir las prácticas que se imparten en la Facultad.

Sí que es muy reseñable el dato de que prácticamente la totalidad de los animales estudiados presentaba más de una patología. Solamente en el 3% de ellos se encontró una única causa que pudo determinar su desvieje, siendo lo más frecuente encontrar tres (48%) o dos (33%), si bien no se detectó ninguna combinación de causas que destacase sobre el resto.

Si las causas de desecho se agrupan por sistemas o aparatos afectados, se observa que un porcentaje importante están relacionadas con el aparato reproductor (60 %), seguido del respiratorio (39,7%) y digestivo (32,9%), y con porcentajes mucho más bajos los problemas que afectan al sistema locomotor (13,7%) y nervioso (3%). El dato correspondiente al aparato reproductor parece significativamente elevado, pero hay que señalar que en este porcentaje se incluyen también las patologías mamarias y las de los machos. Así, la proporción de hembras con problema relacionados con el aparato reproductor en el que no se detectaron problemas mamarios fue del 23%.

En cuanto a las patologías diagnosticadas en estos animales, en las hembras destacan las mamitis no causadas por Maedi-Visna (31,7%), la pseudotuberculosis (20,6%), el Maedi-Visna en todas sus formas clínicas (20,6%) y otras neumonías (25,4%). Dentro de las variantes del Maedi-Visna la forma clínica más frecuente fue la respiratoria (9,5%), seguida de la mamaria (7,9%) y de la articular (3,2%), no encontrándose ningún caso de Maedi nervioso. Con respecto a los machos, todos tenían problemas a nivel del sistema reproductor, bien ubicados a nivel del pene (54,54%) o de los testículos (45,45%).

Si se hace el desglose por edades de los animales, el sistema reproductor sigue siendo el más afectado en todos los rangos de edad, excepto en el tramo de 1-3,9 años que es superado por el sistema digestivo (56%) y por el respiratorio (33%).

Los resultados presentados se resumen en las siguientes tablas:

Tabla 1. Distribución de las causas de desecho por sistemas y rango de edades.

Edad (años)	Nº animales	% edad	S. Reproductor	S. Respiratorio	S. Locomotor	S. Digestivo	S. Nervioso
<1	3	4,1%	100%	33%	33%	33%	0%
1-3,9	9	12,3%	22%	33%	0%	56%	0%
4-4,9	9	12,3%	56%	44%	11%	33%	0%
5	6	8,2%	50%	33%	0%	50%	17%
6	20	27,4%	65%	40%	20%	25%	5%
7	8	11%	75%	38%	25%	0%	0%
≥8	18	24,7%	67%	44%	17%	28%	0%
Media: 5,5							
TOTAL	73	100%	60,3%	39,7%	13,7%	32,9%	2,7%

Tabla 2. Distribución de las patologías detectadas en los animales de desecho en función del sexo.

Patologías	Hembras		Machos		
	Nº animales	% animales	Patologías	Nº animales	% animales
Mamitis	20	31,7	Lesiones en testículos	5	45,45
Pseudotuberculosis	13	20,6	Lesiones en pene	6	54,54
Maedi-Vina respiratorio	6	9,5			
Maedi-Visna mamario	5	7,9			
Maedi-Visna articular	2	3,2			
Otras neumonías	16	25,4			

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos con este estudio indican que la edad avanzada no es el factor más importante considerado por el ganadero al realizar el desecho. Destacan las causas relacionadas con el sistema reproductor, sobre todo las mamitis, que parecen afectar de forma importante en la mayoría de los rangos de edad estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcaide, M., Frontera, E.M., Navarrete, I., Reina, D. (2004). Situación actual de la oestrosis ovina en España. *Mundo Ganadero* 165:43-46
- Fernandez, D. (2013) Fsa 9609. Selection and Culling Decision Making for Hair Sheep Producers. <http://www.uaex.edu/publications/pdf/FSA-9609.pdf>
- Ramos, J.J., Ferrer, L.M. (2007). En: la exploración clínica del ganado ovino y su entorno. Editorial Servet, Zaragoza. PAG: 37-38

- Filley, S. (2009) Cullingewes. Oregon state uiversity extensión service. L.F.Circular n°0602. <http://www.extension.oregonstate.edu/douglas/sites/default/files/documents/if/2007/dcclf602.pdf>
- Martin, W.B., Aitken, I.D. (2002). eN: Enfermedades de la oveja. Editorial Acribia, Zaragoza, PAG: 90-94
- McNeal, L. G. (2000) Culling ewes. sheep sheet. The navajo sheep project. <http://www.navajosheepproject.com/images/pdf/ewes/cullingewes.pdf>.

MAIN CULLING CAUSES IN MEAT BREED SHEP IN ZARAGOZA

SUMMARY

In order to enhance the health of the flock and minimize economic losses due to low productivity, culling has become a standard practice in within stockmen. The main purpose of this work has been the study of the main culling causes in meat breed sheep in semi-intensive and intensive production in Zaragoza and its surroundings by the Ruminant Clinic Service of the Veterinary Faculty of Zaragoza during 2013-2014 and 2014-2015. The average age of the animals in this study was around 5'5 years. Only 3% of the cases shown a single cause for culling, being more frequent to find two (33%) and three (48%) to be the causes of it. The reproductive system was the most affected (60% of the cases), including mammary glands, followed by the respiratory (39,7%) and digestive system (32,9%). Regarding pathologies, in ewes were found to be mastitis (31,7%), pseudotuberculosis (20,6%), Visna-Maedi (20%) and other pneumonias (25,4%), whereas in rams injuries in testicles and penis were the only ones found. The reproductive system is the most affected in within age ranges except in ages 1 to 4 which is overcome by the digestive and respiratory system.

Key words: culling, meat breed sheep, semi-intensive and intensive production.

¿ADENOCARCINOMA NASAL ENZOÓTICO Y ADENOCARCINOMA PULMONAR OVINO EN UNA MISMA OVEJA?

RAMÓN, S.¹; RIVERA, J.¹; SAURA, F.¹; BADIOLA, J.J.²; LACASTA, D.¹ y ORTÍN, A.¹

¹Servicio de Clínica de Rumiantes (SCRUM).

²Unidad de Anatomía Patológica, Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza (España).

RESUMEN

Se presenta el caso de una hembra ovina adulta de la raza Rasa Aragonesa cuyos signos clínicos más destacados fueron la presencia de un flujo nasal seroso unilateral derecho, deformación maxilar de ese mismo lado confistulización a nivel infraorbitario y salida de un contenido purulento y maloliente. Asimismo, se observó tos productiva y fuerte, disnea respiratoria mixta y la auscultación pulmonar reveló estertores, ronquidos y sibilancias al final de la espiración. La prueba de la “carretilla” fue positiva, con salida de un fluido seroso y espumoso por ambos ollares. Estos signos clínicos hicieron sospechar de la presencia de forma conjunta de adenocarcinoma nasal enzoótico (ANE) y adenocarcinoma pulmonar ovino (APO). Ambas enfermedades, que están causadas por dos betaretrovirus muy similares, presentan una gran difusión a nivel mundial y ocasionan pérdidas económicas importantes. Hasta el momento no se ha descrito la presencia conjunta de las dos enfermedades en un mismo animal, probablemente por la baja prevalencia clínica de estos procesos en los rebaños afectados. El estudio anatomopatológico realizado tras la necropsia, que incluyó un análisis histológico de las lesiones encontradas, confirmó la presencia de APO pero no la de ANE, diagnosticándose el tumor nasal como carcinoma de células planas. Como conclusión, se recalca la importancia de la utilización de todas las pruebas diagnósticas disponibles para ser más precisos en el diagnóstico definitivo.

INTRODUCCIÓN

El caso que presentamos fue remitido durante el curso 2014-15 al Servicio de Clínica de Rumiantes, que oferta la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (SCRUM). El animal, una oveja de la raza Rasa Aragonesa, llegó al servicio como un animal de desvieje para ser destinado a la docencia práctica impartida en la Facultad. Los alumnos hicieron el seguimiento del caso y su interés reside en su singularidad, ya que se sospechó que el animal podía haber desarrollado de forma conjunta dos tumores: adenocarcinoma nasal enzoótico (ANE) y adenocarcinoma pulmonar ovino (APO). La prevalencia clínica de cada una de estas enfermedades en los rebaños afectados de forma endémica es baja, lo que hace muy poco probable su aparición conjunta en un mismo animal. Por ese motivo, no existe hasta el momento ninguna descripción de un caso doble.

La oveja que nos ocupa procedía de una explotación de Leciénena (Zaragoza) situada en la zona de Los Monegros. El rebaño consta de 2000 ovejas en explotación semiextensiva con un ritmo reproductivo intenso. La explotación está libre de Maedi/Visna, así como de Brucelosis. En cuanto a las desparasitaciones, se llevan a cabo siguiendo las recomendaciones del veterinario. Como patologías más frecuentes en la explotación cabe destacar la linfadenitis caseosa, que se suele presentar en animales jóvenes, y un goteo de paratuberculosis. El año pasado tuvo un brote importante de listeriosis. Tras la exploración del animal, los datos más relevantes fueron:

- Hembra de más de 8 años de edad, Rasa aragonesa, con una condición corporal de 2, en una escala de 1-5.
- Mucosas pálidas, TRC aumentado ligeramente.
- Prominencia de la zona maxilar derecha con fistulización a nivel infraorbitario y salida de contenido purulento y de olor desagradable.
- Flujo nasal seroso unilateral derecho.
- Tos productiva y fuerte, disnea respiratoria mixta.
- A la auscultación pulmonar, con el animal tumbado, se escucharon estertores, ronquidos y sibilancias al final de la espiración. La localización era difusa, aunque fueron más acentuados en el lado derecho, en la zona craneoventral.
- Los nódulos linfáticos, submandibular derecho y preescapulares estaban aumentados.

Tras la obtención de estos datos, se procedió a realizar la prueba de la carretilla, se tomaron muestras de sangre venosa para el análisis hematológico, y se solicitó la ecografía del maxilar derecho para definir el tipo de lesión. En la necropsia realizada tras el sacrificio se llevó a cabo un examen exhaustivo y se tomaron muestras de las lesiones encontradas, que fueron procesadas para su estudio histológico.

DISCUSIÓN

Los resultados del hemograma reflejaron una anemia normocítica y normocrómica, poco específica y muy frecuente en los procesos de tipo crónico. En la ecografía del maxilar derecho se observó una línea hiperecogénica discontinua, así como una zona hipoecoica en la cavidad nasal, que sugiere la presencia de una masa con consistencia de tejido blando. Este dato, junto con los obtenidos de la exploración de las vías altas, nos hace descartar la oestrosis (la secreción nasal debería ser mucopurulenta y no serosa) y nos orienta hacia un posible caso de ANE, que al fistulizar hubiese originado una contaminación secundaria de la lesión, hecho que explicaría el aspecto purulento, y maloliente del contenido.

Por otro lado, los resultados de la auscultación pulmonar hicieron sospechar que este animal podía presentar neumonía catarral, bronquitis o bronconeumonía, idea que fue descartada ya que los ruidos respiratorios eran muy productivos. La otra opción compatible era el APO y el resultado de la prueba de la carretilla, que fue positivo, apoyó esta sospecha.

El adenocarcinoma nasal enzoótico (ANE, tumor intranasal enzoótico) de la oveja y de la cabra y el adenocarcinoma pulmonar ovino (APO, jaagsiekte, adenomatosis pulmonar ovina) son dos enfermedades contagiosas caracterizadas por la transformación neoplásica de las células epiteliales secretoras del tracto respiratorio. Ambos tumores están causados por dos betaretrovirus muy similares pero distintos, ENTV y JSRV, respectivamente. Las dos enfermedades están muy difundidas a nivel mundial y representan un problema veterinario significativo en los países afectados (Sharp y DeMartini, 2003; De las Heras y col., 2003b). En España, y en concreto en la región de Aragón, ambas enfermedades se consideran endémicas. La prevalencia de la enfermedad en los rebaños españoles afectados es del 1-5% para el APO (De las heras y col., 2001) y en el caso del ANE del 0,1-0,3% en las ovejas y del 1-1,5% en las cabras (De las heras y col., 2003b). A nivel clínico se caracterizan por ser procesos respiratorios de tipo crónico, afebriles y que provocan un adelgazamiento progresivo y muerte del animal en pocos meses. En el caso del APO, además de la disnea, es muy significativa la producción

de un fluido pulmonar seroso de aspecto espumoso que se acumula en las vías bajas y que da lugar a borborismos y sibilancias percibidas en la auscultación pulmonar, y que puede ser evidenciado saliendo por los ollares cuando el animal es levantado por sus cuartos traseros (prueba de la “carretilla” o del descenso cefálico). En el ANE, el crecimiento del tumor a nivel de los cornetes nasales provoca disnea, ronquidos y deformaciones del cráneo y también es muy característica la secreción de un fluido nasal de tipo seroso que se elimina por los ollares (De las Heras y col., 2003a; De las Heras y col., 2003b). No existen test para el diagnóstico in vivo de estas enfermedades, que se realiza en base al cuadro clínico y que debe confirmarse tras la necropsia. Los virus causantes no generan una respuesta inmune humoral en los animales afectados (Ortín y col., 1998), por lo que no hay test serológicos y aunque es posible la detección por PCR de ADN proviral de JSRV en las células blancas sanguíneas, los resultados no son consistentes (Caporale y col., 2005; De las Heras y col., 2005). Todo esto hace que el control y erradicación de estas enfermedades sea muy difícil, teniendo además en cuenta que tampoco se dispone de vacunas frente a ellas y no existe tratamiento. Para mantener controlados los brotes de estas enfermedades solo se puede recurrir a medidas preventivas como higiene y desinfección (instalaciones y materiales), evitar la masificación y eliminar del rebaño a los animales enfermos. En el caso del APO también puede resultar útil separar a los corderos tras el parto y realizar lactancia artificial, ya que parece que hay transmisión del agente causal a través del calostro y de la leche (Grego *et al.*, 2008). No obstante, estas medidas preventivas no garantizan la eliminación total de la enfermedad en el rebaño, aunque sí reducen su prevalencia, ya que antes de la aparición de los signos clínicos, los animales afectados pueden generar aerosoles que contienen cantidades suficientes de virus para infectar a otros animales (Cousens y col., 2009). Utilizando técnicas de PCR se han encontrado animales afectados de ANE que estaban también infectados por el virus del APO (Ortín y col., 2004), pero hasta el momento no se ha descrito ningún caso en el que coexistan ambas enfermedades en un mismo animal.

Llegados a este punto, y teniendo en cuenta la edad y el mal estado físico del animal, se decidió su sacrificio y posterior necropsia con el objetivo de alcanzar un diagnóstico definitivo mediante el estudio anatomopatológico. En las fosas nasales se observó una sinusitis en la zona caudal del maxilar, también una masa de consistencia carnosa y necrosis con destrucción total de la parte caudal de la zona palatina. El pulmón estaba aumentado de tamaño, con forma acampanada y zonas consolidadas y blanquecinas tanto en el lóbulo caudal derecho como en el accesorio. La lesión parecía que se hubiese iniciado en un punto y se hubiese ido expandiendo localmente en forma de nódulos planos

blanquecinos. Al realizar un corte transversal de la zona afectada se observó exudación de líquido espumoso, característica importante del APO (De las Heras y col., 2003a). No se encontraron en el cadáver otras lesiones reseñables. Aunque estos hallazgos parecían compatibles con el diagnóstico inicial de ANE y APO, se tomaron muestras de las lesiones para su estudio histológico.

El estudio histológico de las muestras de las lesiones pulmonares reveló modificaciones características de APO, con pérdida de estructura debido a una gran proliferación celular, de estructura glandular. Los alveolos transformados formaban grupos cuyo epitelio constituido por células cuboides o columnares originaba crecimientos papiliformes, que asimismo se observaron en los bronquiolos terminales. También se encontraron focos de necrosis y zonas de inflamación con infiltración de neutrófilos. En las muestras del tejido encontrado en la cavidad nasal, a nivel histológico se evidenció una amplia zona de necrosis, también se observaron células gigantes, anaplásicas y mitosis. Estos hallazgos son propios de tumores malignos. No se apreció transformación de células glandulares, por lo que el ANE quedó descartado. Tras estos resultados, el diagnóstico definitivo fue APO y carcinoma de células planas (PT), responsable de la zona necrótica de la región maxilar.

CONCLUSIONES

En este caso clínico, el estudio histopatológico ha sido la herramienta definitiva para llegar a un diagnóstico certero. La exploración, las pruebas de diagnóstico por imagen y la necropsia, con la observación de las lesiones macroscópicas nos habrían inducido a un diagnóstico erróneo de ANE. Por ello es importante recalcar la importancia del uso de todas las pruebas diagnósticas que tengamos a nuestro alcance para ser más precisos en el diagnóstico definitivo. O bien ser conscientes de que en algunos casos, si no es posible realizar determinadas pruebas, no se puede hablar de una resolución del caso confirmada y habría que recalcar que es presuntiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Caporale, M., Centorame, P., Giovannini, A., Sacchini, F., Di Ventura, M., De las Heras, M., Palmarini, M. (2005). *Virology* 338, 144-153.
- Cousens, C., Thonur, L., Imlach, S., Crawford, J., Sales, J., Griffiths, D.J. (2009). *Research In Veterinary Science* 87: 154-156.
- De las Heras, M., Ortín, A., Pérez De Villarreal, M., Ferrer, L.M., García de Jalón, J.A. (2001). *Albeitar* 49: 22-23.
- De las Heras, M., González, L., Sharp, J.M., (2003a). *Current Topics in Microbiology and Immunology* 275, 25-54.

- De las Heras, M., Ortín, A., Cousens, C., Minguijón, E., Sharp, J.M. (2003b). *Current Topics in Microbiology and Immunology* 275: 201-223
- De las Heras, M., Ortín, A., Salvatori, D., Pérez de Villareal, M., Cousens, C., Ferrer, L.M., García de Jalón, J.A., Gonzalez, L., Sharp, J.M. (2005). *Research in Veterinary Science* 79: 259-264.
- Grego, E., De Meneghi, D., Álvarez, V., Benito, A.A., Minguijón, E., Ortín, A., Mattoni, M., Moreno, B., Pérez de Villarreal, M., Alberti, A., Capucchio, M. T., Caporale, M., Juste, R., Rosati, S., De las Heras, M. (2008). *Veterinary Microbiology* 130:247-257.
- Ortín, A., Minguijón, E., Dewar, P., García, M., Ferrer, L.M., Palmarini, M., Gonzalez, L., Sharp, J. M., De las Heras, M. (1998). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 61: 229-237.
- Ortín, A., Pérez de Villarreal, M., Minguijón, E., Cousens, C., Sharp, J.M., De las Heras, M. (2004). *Journal of Comparative Pathology* 131: 253-258.
- Sharp, M.J., Demartini, J.C. (2003). *Current Topics In Microbiology And Immunology* 275:55-79.

ENZOOTIC NASAL ADENOCARCINOMA AND OVINE PULMONARY ADENOCARCINOMA IN THE SAME SHEEP?

SUMMARY

We present the study of a clinical case of a Rasa Aragonesa ewe, whose main clinical signs were unilateral serous nasal discharge with maxilar deformation and a fistula in the infraorbital area with constant drainage of a purulent and malodorous substance. Furthermore, a chesty, heavy cough and mixed dyspnoea was observed, and the auscultation revealed rales, rhonchi and wheezings in expiration. Raising the hindquarters and lowering the head caused frothy serous fluid to run from the nostrils. These clinical signs made us suspicious of both enzootic nasal adenocarcinoma and ovine pulmonary adenocarcinoma. These diseases are caused by two similar betaretroviruses and are widely spread around the world, causing important economic losses. So far there has never been described the presence of both diseases within the same animal. This is probably due to the low clinical prevalence in the affected flock.

Samples taken at necropsy for histologic analysis revealed the presence of OPA, but the nasal tumor was diagnosed as squamous cell carcinoma. To sum up, we want to emphasize the importance of use of all diagnostic tests in order to be more accurate when giving a final diagnosis.

DOMES, U.; BAUER, B.; JANOWETZ, B. y BOETTCHER, J.

Servicio de Sanidad Animal de Baviera (TGD), Senator-Gerauer-Str. 23, 85586 Poing/Grub, Alemania.

RESUMEN

La pseudotuberculosis o linfadenitis caseosa es una enfermedad mundialmente distribuida. En las cabras lecheras de Baviera produce grandes problemas de producción y de higiene. Por este motivo, se está monitoreando desde 2009 para obtener predios libres certificados. En el año 2014 de los 62 rebaños examinados, con más de 3000 cabras, 52 recibieron un certificado de estar sin signos de pseudotuberculosis.

Palabras clave: pseudotuberculosis, linfadenitis caseosa, cabras, Baviera.

INTRODUCCIÓN

La pseudotuberculosis o linfadenitis caseosa es causada por la bacteria *Corynebacterium pseudotuberculosis* y produce grandes problemas en cabras y también en ovejas al disminuir la producción de carne, leche y lana. Por esto los criadores de cabras solicitaron al Servicio de Sanidad Animal de Baviera implementar un sistema de monitoreo de esta enfermedad en las cabras de Baviera. Potencialmente también puede ser transmitida al ser humano (Estevao Belchior *et al.*, 2009).

MATERIAL Y MÉTODOS

En 2009 se comenzó con el monitoreo, todos los criadores de cabras pueden participar voluntariamente. Se examinan todas las cabras adultas, palpando los ganglios linfáticos superficiales. Se anotan si

hay aumento de volumen moderado, abscesos o cicatrices. De cada décima cabra se toma una muestra de sangre y se analiza la presencia de anticuerpos (Hyphen CLA-ELISA). Si la clínica y el resultado de la muestra de sangre son negativos, el ganadero recibe un certificado que está en el primer, segundo,... año sin signos de pseudotuberculosis.

RESULTADOS

El año 2009 se comenzó con 46 rebaños caprinos, de los cuales 36 recibieron el certificado de estar sin signos de pseudotuberculosis. Hasta 62 predios en el año 2014, siendo 52 negativos (Figura 1). En algunos predios había animales con resultados dudosos en la muestra sanguínea. A partir del año 2015 existe un nuevo test ELISA que diferencia mejor entre positivo y negativo.

La mayoría de las cabras no presentaron signos clínicos en la palpación (Figura 2). Una vez al año hay un mercado de cabras de toda Baviera; allí también se examinan todas las cabras palpándolas y se estabulan separadamente según el estado de su rebaño (Figura 3).

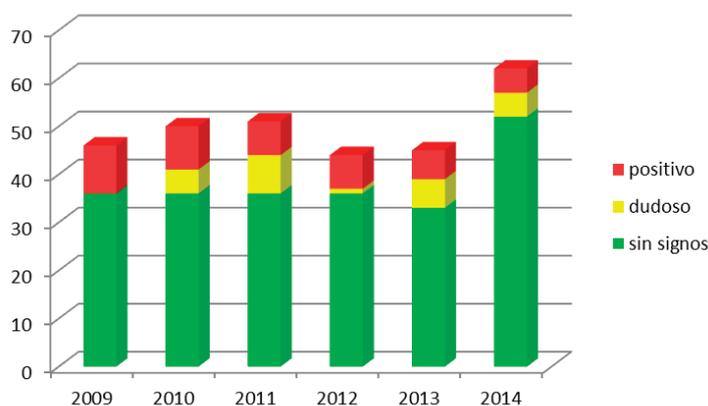


Figura 1. Rebaños con el estado positivo, dudoso, sin signos.

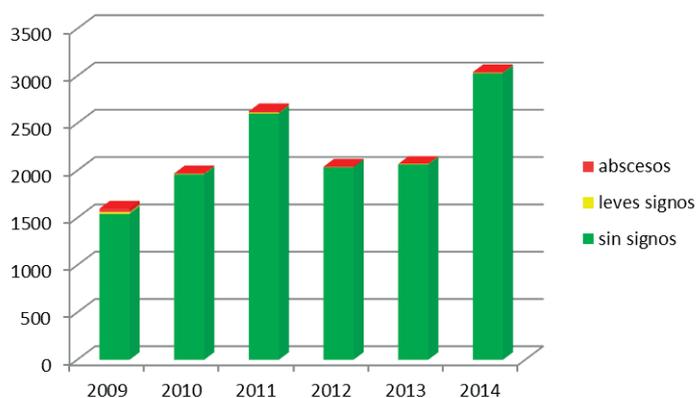


Figura 2. Cabras examinadas con leves signos, abscesos/cicatrices, sin signos.

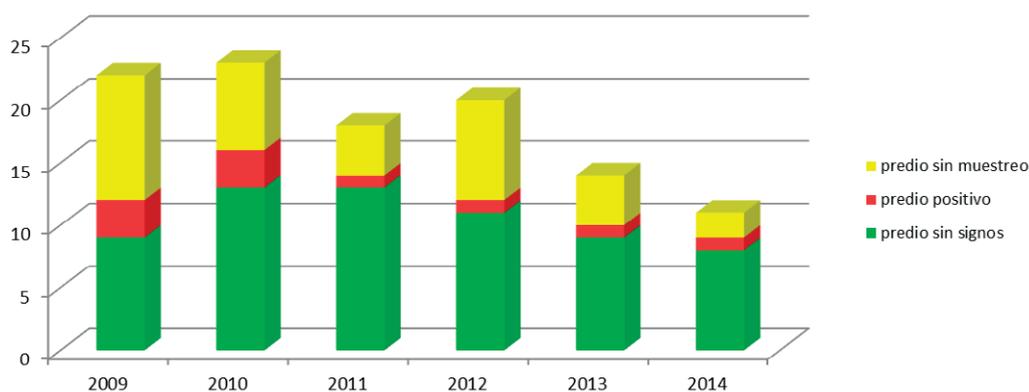


Figura 3. Estado de los rebaños de las cabras en el mercado.

DISCUSIÓN

La mayoría de los animales examinados se encuentran libres de signos de la enfermedad. Pero en este monitoreo participaron mayormente criadores o rebaños lecheros que no tienen la enfermedad para recibir el certificado y así poder vender mejor sus animales. Los predios con animales enfermos de pseudotuberculosis primero eliminan los animales positivos y después entran al sistema para monitorearse.

Se pensaba al principio que en los mercados únicamente se observarían animales con el estado negativo, pero se encontraron animales positivos o dudosos. Así que a partir del 2016 el Mercado va a ser sólo para criadores libres de pseudotuberculosis.

CONCLUSIÓN

El monitoreo es exitoso para obtener especialmente cabras lecheras libres de signos de pseudotuberculosis para poder producir leche y carne de alta calidad higiénica.

BIBLIOGRAFÍA

Estevao Belchior, Silvia Graciela; Gallardo, Adriana Alicia; Abalos, María Andrea; Alvarez, Laura Alejandra; Nuñez, Natalia Carolina; Guevara, Darío; Jensen, Oscar (2009): *Corynebacterium pseudotuberculosis*, potencial agente zoonótico. Revisión de casos (Zoonotic potential of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, revision cases) Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico-Tecnológico (CRIDECIT). Chubut, Argentina. Redvet. Revista Electrónica De Veterinaria. ISSN: 1695-7504 2009 VOL. 10, N° 10.

LUCAS PEÑA, M.A.

Facultad de Veterinaria de Murcia.

Paraje “El Raal” 15-109, C/.Larga, 24, Alhama de Murcia C.P. 30840.
Murcia.

RESUMEN

Los Servicios veterinarios de una ADSG, reciben aviso por parte de un socio y se acude a la granja. La anamnesis realizada reveló un brote de coccidiasis en la explotación, además se pusieron en evidencia los déficits en el “programa sanitario”, lo que sumado a los análisis laboratoriales, no hicieron más que redundar, en el problema general de manejo, de la explotación. Desde este punto, se pudo reorientar el diagnóstico y asimismo, convenir con el dueño, unas medidas de prevención y control. Tras instaurar el tratamiento adecuado, la incidencia de casos de diarreas descendió y no murieron más corderos.

Palabras clave: Diarrea, neonato, edad de presentación, Síndrome diarreico neonatal.

PRESENTACION DEL CASO

Este trabajo está basado, en mi participación en una empresa externa, durante periodo de *Estancias* de Licenciatura en Veterinaria; donde tuve la oportunidad de intervenir el y valorar el caso. Las diarreas de los corderos neonatos son uno de los principales problemas, en las explotaciones de ovino de cebo, en la actualidad. Este problema, precisa a veces de un desencadenante de tipo mecánico, como un empacho de leche, por lo que se ha considerado tradicionalmente de naturaleza no contagiosa y que está íntimamente relacionada con el manejo general de la explotación. Dentro de estas, destaca poderosamente, por las pérdidas económicas que ocasiona, el Síndrome Diarreico Neonatal

(SDN), en el que hay multitud de factores que participan, de manera que a veces no se considera un único agente etiológico, sino más bien que hay un factor que actúa desencadenando el proceso, pero que influyen bastantes más (“Las diarreas del cordero, un problema multifactorial”- Centro de Transferencia Agroalimentaria).

El Propietario de la explotación y socio de la A.D.S.G [“Ovino-caprino”], ubicada en la pedanía de Lébor, Totana, se pone en contacto con los veterinarios porque tiene un lote de 200 corderos de 2 semanas de vida con diarrea y anorexia. Dicha explotación, se dedica a la producción de ovino de carne, de forma intensiva; con un censo de 2000 reproductoras, de raza Segureña y un ritmo productivo de paridera continua. Aunque las instalaciones están bien proyectadas y disponen de elementos de calidad como bebederos y comederos, comunes en apriscos en donde los animales reciben suplemento alimenticio buena parte del año, el manejo es deficiente, ya que la mano de obra es escasa y sin cualificación. El tipo de paridera que tiene, no permite hacer “vacío sanitario” y por tanto, no ya la contaminación física, sino fundamentalmente la microbiológica, va aumentando, contaminándose más los locales. El caso había empezado con otra sospecha, porque el ganadero en una conversación telefónica previa decía que les había puesto “algo” a los corderos para los coccidios y que además, no había mezclado animales sanos con los enfermos (posteriormente de aquellos, se han muerto bastantes en el redil y es por lo que se queja el ganadero). Tras repasar el “programa sanitario”, se evidencia un antiparasitario (Rumicox®) y a falta de otra información diagnóstica se le ofreció aplicar **oxitetraciclina**.

Ya en la segunda consulta y a petición del ganadero, se visita la explotación y se comprueba que efectivamente son corderos con varias semanas de vida, con diarrea de diferentes coloraciones y texturas, con presencia de animales muertos y otros muy delgados. El operario expone que ese corral no se limpió y se juntaron 2 lotes distintos (enfermos y sanos) sin limpieza previa, debido a la falta de espacio (pues eran 400 corderos), a petición expresa del propietario y desoyendo las recomendaciones del operario. Preguntado el mismo, si ha aplicado algún tratamiento extra, contesta, que aplicó diferentes antibióticos, en concreto: **oxitetraciclina** (3 días, en el agua de bebida), Iodinar® rehidratante, **aminosidina** (5 días en agua), **gentamicina** 5 días *i.m.*

Allí mismo se hace un test para *Cryptosporidium parvum*, siendo el resultado negativo; ya que actualmente, se dispone de “kits comerciales”, test rápidos muy útiles para el diagnóstico *in situ*. Tras la anamnesis, se realizaron los siguientes análisis y/o pruebas complementarias: se cogieron muestras de heces de 3 corderos con diarrea, para enviarlas al laboratorio (Laboratorios SYVA S.A.U.)

Resultados

- A partir de las muestras recibidas:
aislamiento de *E. coli* en baja cantidad, no significado patológico.
- Detección de Antígeno:

Ref. muestra	<i>Cryptosporidium parvum</i>
Heces e hisopo	Negativo

- Parasitología:
Presencia elevada de ooquistes de coccidios.

Tratamiento

- Dieta a paja y agua 24 horas, para la recuperación de la flora intestinal.
- Aplicación de “flora” (*Proflora*® *syva*).
- Tras 24 horas de dieta, aplicación de Coccivex®: Mezclar diariamente con el agua de bebida a razón de 0,6 ml – 1,2 ml por litro de agua durante 5 -7 días, conviene prolongar su administración de 7 a 14 días a mitad de la dosis mínima indicada.
- En todos los corrales de cebo, aplicación de *Zix virox*®: Biocida, bactericida, fungicida, esporicida, y también actúa frente a protozoos y ooquistes de coccidios.

DISCUSIÓN

Se continúa investigando la existencia de otras patologías, de las que *a priori*, se sospecha como son coccidiosis, “colibacilosis”, infección por virus (rota/coronavirus)..., pues los síntomas tan inespecíficos que está sufriendo el rebaño, dificultan mucho establecer un diagnóstico presuntivo. Pero hemos de suponer que, identificado el agente etiológico, estableceremos el diagnóstico definitivo. Empezamos elaborando un diagnóstico diferencial, con la diarrea como base, en donde encajarían:

- **Coccidiosis** (*i.e.*: *Eimeria crandallis*, *Eimeria ovinoidalis*)
- **Rotavirus**
- **Colibacilosis** (infección por *E. coli*)
- **Clostridiosis** (enterotoxemia por *Clostridium perfringens* tipos B y C).
- **SDN** (Síndrome Diarreico Neonatal).

Todas las patologías anteriores, tienen como principal signo en común la diarrea, lo cual puede explicarse, porque sus “factores desencadenantes” (*agentes etiológicos*), asientan a nivel gastro-intestinal. Sin embargo, si tenemos en cuenta la edad de presentación, podemos decir que algunas son menos probables, como rotavirus (aparición en la 1ª semana de vida), “colibacilosis” (< 3-5 días; aunque no tanto, *E. coli* septicémico y enterohemorrágico, que suelen aparecer a una edad más avanzada). Por el cuadro clínico observado en el rebaño *C. perfringens* sobretodo el tipo C, provoca cuadros de disentería más que de diarrea y se observarían heces hemorrágicas (Enterotoxemia hemorrágica, en curso) además de signos neurológicos en animales que sobrevivieran por varias horas; por lo que, se descarta dicha afección. Por ser la infección intestinal más frecuente en los pequeños rumiantes y porque su cronología es posterior a la mayoría de las infecciones del Síndrome diarreico neonatal, la etiología más probable sería coccidiosis. Aunque en este caso no se hizo (porque se pudo atajar el problema, antes de cualquier investigación clínica posterior) se podría haber continuado investigando y a partir de una coprología, tratar de esporular ooquistes; para identificar morfológicamente, la *Eimeria* sp. responsable del cuadro clínico. También se debería haber hecho necropsia de algún animal que presentara los signos típicos, pues es muy útil para la identificación macroscópica de lesiones, a menudo de localización típica. Recapitulando, si sumamos los “factores predisponentes”, intrínsecos a las explotaciones intensivas (y que ocurren en este caso) como: falta de higiene en los locales, mal manejo de los animales (mezcla de animales sanos con enfermos), las deficiencias presuntivas en el “programa sanitario” más el brote de coccidiasis; esta conjunción de factores, arroja como diagnóstico definitivo, el SDN, que además presenta, por lo general, altas tasas de morbilidad (puede llegar al 80%) y mortalidad moderada (15-20%) en animales neonatos, lo que coincide con las cifras detectadas en granja (Cubero y Vizcaíno, 1998). Hay un excesivo tratamiento antibiótico de los corderos posteriormente. Este hecho que no conocíamos al principio, explica por sí sólo gran parte del proceso, pues la modificación de la flora saprófita que no puede digerir de forma óptima el sustrato que forma el pienso enriquecido en hidratos de carbono y proteínas, iniciará la indigestión; forma el ambiente perfecto para la multiplicación de protozoos intestinales (adaptado de Ferrer Mayayo, L.M. “Diarreas en corderos”).

Llegados a este punto, hay que hacer prevención y control (factores predisponentes), en que hay que incidir en el futuro: La alimentación de la oveja influye, en el peso al nacer y en el nivel de Ig que presenta el neonato, de manera que una mala condición corporal de la madre, resultará en una bajada de la inmunidad y diarrea “casi segura” en el

cordero lactante. La edad de la madre es un parámetro muy importante ya que las más viejas, con patologías previas, producirán corderos débiles, pequeños (factor propio); mientras que las más jóvenes con escasa experiencia inmunológica, darán un calostro de baja calidad. Un buen encalostrado, es fundamental para una buena inmunidad del cordero. Y por último, pero no menos importante, es la higiene de los rediles; ya que el ritmo productivo, no permite hacer “vacío sanitario”, sería conveniente limpiar el redil, tras trasladar un lote de corderos, antes de introducir el siguiente, realizar una buena asepsia e introducir la suficiente paja (Ferrer, 2005).

CONCLUSIONES

Tras analizar los resultados a los análisis practicados por los veterinarios de la ADS, se puede concluir que:

- Ya que se realizaron tratamientos preventivos para coccidios (Rumicox®) y conociendo que el operario se encuentra solo para gestionar toda la paridera y corderos; no se aplicó correctamente el medicamento para la prevención de coccidios.
- Este caso pone de relieve la necesidad de un examen cuidadoso, realizando todas las partes del mismo, para detectar la presencia de la enfermedad. Puede que, en ocasiones, no debamos creer literalmente al ganadero al principio e iniciar nosotros la investigación clínica, para intentar ofrecer un tratamiento certero, desde el primer momento.
- En este, el mayor problema ha sido productivo, por las “colas” en los lotes que se han formado, más los corderos neonatos muertos por supuesto, lo que ha ocasionado una gran pérdida económica para el ganadero. Todo lo cual, refuerza la idea de que hay que tratar al rebaño, como una colectividad, más que tratar individuos aisladamente.

BIBLIOGRAFÍA

- M^a José Cubero Pablo y Luis León Vizcaíno. “Enfermedades infecciosas de los animales” Editorial DM: ICE Universidad de Murcia, 1998.
- Ferrer, Luis Miguel; García de Jalón José A. y de Las Heras, Marcelo. “Atlas de patología ovina”. Editorial SERVET S.L. 2^a edición, 2002.
- Linklater, K.A. & Smith, M.C. “Diseases and disorders of the Sheep and Goat”. Editorial Mosby-Wolfe, 1997 (reprinted).

“Guía de Habilidades y Buenas Prácticas en Veterinaria”-«guía para la asignatura Estancias» Coordinadores: Librado Carrasco Otero, Rafael J. Astorga Márquez y Manuel A. Amaro López. Edita: Decanato Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, 2007.

Ferrer Mayayo, L.M.: “Guía del aborto ovino”. Edita: Laboratorios Intervet, S.A., 2005.

Memorias de “VI Jornadas de Medicina Veterinaria de Rumiantes IVSA Madrid-Trialvet”. Edita: Trialvet Asesoría e Investigación Veterinaria S.L.

“Las diarreas del cordero, un problema multifactorial”. Num.18X. Año 2007. Coordina: Centro de Transferencia Agroalimentaria, Gobierno de Aragón.

Recursos en la web:

- <http://fotovet.com>
- “Diarreas en corderos”. Cuadernos de campo MERIAL. <http://es.merial.com>

DIARRHEA IN A HOLDING OF OVINE MEAT

SUMMARY

Veterinary services from a ADSG received notice from a partner and go to the farm. The anamnesis performed it revealed an outbreak of coccidiosis on the farm, also deficits were evidenced in the health program, which added to the laboratory analysis, did no more than redound in the general problem of management exploitation . From this point, it could redirect the diagnosis and also to agree with the owner, some arrangements of prevention and control. After the appropriate treatment, the incidence of diarrhea fell and they not died more lambs.

GUFLER, H.

Veterinary Service Meran, Department of Hygiene and Public Health of South Tyrol, Italy.

helmuth.gufler@sbbz.it

INTRODUCTION

Floppy Kid Syndrome (FKS) in goat kids is widespread in the world. The disease is characterized by altered general condition (apathy, somnolence, and lethargy), altered posture (knuckling over in the carpal joints, ataxia, and recumbency), salivation and abomasal distension (Bleul *et al.*, 2006; Gufler and Pernthaner, 1999; Gufler, 2012; Klein *et al.*, 2010; Millemann, 2003; Riet-Correa *et al.*, 2004). At necropsy a dilatated abomasum filled with coagulated milk is typically. The symptoms of affected kids are related to a marked metabolic acidosis (Gufler and Pernthaner, 1999). Venous blood gas analysis reveals decreased pH value, and a negative Base Excess (Bleul *et al.*, 2006; Gufler and Pernthaner, 1999). D-lactate in serum samples is increased (Bleul *et al.*, 2006; Klein *et al.*, 2010). As the cause of FKS is not clear today treatment of FKS is based on administration of sodium bicarbonate to puffer the metabolic acidosis.

MATERIAL AND METHOD

In a 10 year during clinical field study conducted on a goat farm in South Tyrol (Italy), occurrence, signs and the course of FKS in kids separated and reared with bovine colostrum/milk (group 1) were documented, and compared with kids suckling with their respective dams (group 2).

The aim of this long-term field study was to investigate if FKS can be prevented by this method.

RESULTS AND DISCUSSION

None of the 146 kids, which were separated from their dams and raised with bovine colostrum/milk (group 1) suffered from FKS. However, in kids raised traditionally with their nursing dams (group 2; n.=268) symptoms typical of FKS were observed in 16 cases. It seems that separation interrupts the route of bacterial infection, as the kids are not exposed via sucking/licking to bacteria causing D-lactic acidosis from the adult goats or their immediate environment. Monthly distribution of cases of FKS revealed that no cases occurred at the beginning of the kidding season (January and February), 2 cases occurred in March (2.3%), 9 cases occurred in April (69.0%), and 5 cases occurred in May (71.4%). Survival analysis in the period from March to May, in which FKS occurred, revealed a cumulative probability of survival (CPS) of 1.00 for the first day after birth, declining to 0.84 at day 11 after birth. After that time the probability of survival did not decline, meaning that no more cases of FKS had been occurred. Largest hazard rate is at day 4 and day 5 (Hazard Rate = 0.04), meaning that highest risk becoming ill is between day 3 and day 6 after birth. Of particular interest is that older kids did not get FKS, even if they were in close contact in the same stable. Furthermore, own observations from practice, recently, indicate that, firstly, over consumption of milk plays an important role, and secondly, over consumption can be avoided by stop supplying concentrates/corn to the dams post-partum, and by milking the dams, respectively.

CONCLUSIONS AND CLINICAL RELEVANCE

FKS can be prevented by separating neonate kids from the dams, and rearing the kids with bovine colostrum/milk (work and time intensive). Considering the new observations from practice, together with the data from this long term study (highest risk becoming FKS is, firstly, between day 3 and day 6 after birth, secondly, negligible after day 11, and thirdly, increasing by the end of kidding season), following alternative scheme might be helpful for breeders to prevent or to cure FKS, respectively:

I. Prevention

Avoid overconsumption of milk to the kids

- a. Stop supply of corn/concentrates to the dams for 11 days post-partum
- b. Milk dams of single births or with high milk yield, respectively, for 11 days post-partum

II. Therapy

When FKS is present, additionally to substitution of sodium bicarbonate, note

- a. Stop suckling kids for at least 1 day
- b. Milk the goats before putting back the kids, and continue this until kids are 11 days of age to avoid relapse
- c. Show/let smell the kids daily to the dams, to avoid refusing the kids by the dams

These observations from practice might be helpful for further research on this topic.

Key words: Floppy Kid Syndrome, Metabolic Acidosis, D-Lactate, Prevention, Therapy, Goat kid.

REFERENCES

- Bleul U., Schwantag S., Stocker H., Corboz L., Grimm F., Engels M., Borel N., Lutz H., Schoenmann M., Kaehn W. (2006): Floppy kid syndrome caused by D-lactic acidosis in goat kids. *J. Vet. Med.* 20, 1003-1008.
- Gufler, H. (2012): Prevention of Floppy Kid Syndrome: A long term clinical field study conducted on a goat farm in South Tyrol/Italy. *Small Ruminant Res.* 108, 113-119.
- Gufler, H., Pernthaner, A. (1999): Neonatal Paretic Syndrome in goat kids: a result of metabolic acidosis. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 86, 382-389.
- Klein, C., Bostedt, H., Wehrend, A. (2010): D-lactate elevation as a cause of metabolic acidosis in newborn goat kids. The potential rôle of milk as etiopathogenic factor. *Tierärztl. Praxis*, 38, 371-376.
- Millemann, Y. (2003): Les diarrhées néonatales des agneaux et des chevreaux. *Le Point Vétérinaire* 233, 22-29.
- Riet-Correa, F., Tabosa, I.M., Vasoncelos J., De Medeiros, J.M. (2004): Floppy Kid Syndrome. *Pesq. Vet.Bras.* 24, 111-113.

Yersinia pseudotuberculosis INFECTION IN AN ADULT BOER GOAT – A CASE REPORT

HELMER, C.¹; EIBACH, R.¹; KLEINSCHMIDT, S.² y GANTER, M.¹

¹ Clinic for Swine and Small Ruminants, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover, Germany.

² Lower Saxony State Office for Consumer Protection and Food Safety, Food- and Veterinary Institute Braunschweig/Hannover, Germany.

ABSTRACT

This case report describes a *Yersinia pseudotuberculosis* infection in an adult, female single pet goat kept on a dairy cattle farm. *Yersinia (Y.) pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* are gram-negative, aerobic or facultative anaerobic, coccoid, rod-shaped bacteria of the family Enterobacteriaceae (Rolle and Mayr, 2002). They are well known to infect numerous species of domestic and wild animals. Moreover the bacteria are recognized as a common zoonotic food-borne pathogen causing human infections (Kaasch *et al.*, 2012). *Y. pseudotuberculosis* infection occurs worldwide and is a commensal of the intestinal tract of different animal species and humans who function as asymptomatic carriers. Transmission generally occurs by the fecal-oral route. Human beings mainly get infected after ingestion of contaminated food or water. The infectious agent is able to survive outside the host for a long time and can replicate in temperatures as low as 4°C (Bergman *et al.*, 2010). The disease in ruminants in general, and goats in particular, is associated with enterotyphlocolitis and drop of milk yield, lymphadenitis (Seimiya *et al.*, 2005), abortion and neonatal death (Witte *et al.*, 1985, Karbe and Erickson, 1984), mastitis (Cappucci *et al.*, 1978, Jones *et al.*, 1982), septicemia and ocular disease (Wessels *et al.*, 2009). According to a retrospectively conducted study over a 23-year period of time in California, USA, Giannitti *et al.* (2014) could show that clinical

yersiniosis is most frequently reported in goats in comparison to other animal species. Moreover, in a goat mortality study performed on the North Island of New Zealand, yersiniosis was found to be a major cause of death in goats (Buddle *et al.*, 1988). Little is known about the distribution of yersiniosis in small ruminants in Germany. A prevalence study performed in goats in Lower Saxony revealed that more than 66% of the goats investigated showed increased antibody activities against *Yersinia spp.* (Nikolaou and others 2005).

A six-year old female Boer goat was admitted to the Clinic for Swine and Small Ruminants on the 14th of June 2014. The goat was kept as a single pet goat on a dairy cattle farm rearing 250 milking cows and 300 heifers in the North-West of Germany. The animal was never vaccinated and the last deworming was performed in March 2013 with Albendazole. The doe showed the habitus of a chronically ill animal with poor body condition and chronic diarrhea when presented at the clinic. The animal displayed a massive manifestation of the disease with severe enteritis and typhlocolitis, lymphadenitis and some up to 10 cm in diameter pyogranulomatous inflammation in liver, spleen, pancreas, omasum and the intestinal lymph nodes. All other causative agents that might explain the described symptoms were ruled out (*Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Mycobacterium avium spp. paratuberculosis*, tumorous alterations, foreign bodies, caprine arthritis encephalitis). Goats seem to be vulnerable for yersiniosis but in contrast to this case report, in most cases of the disease *Y. enterocolitica* can be proved as infectious cause of yersiniosis in this animal species.

REFERENCES

2002. *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Stuttgart, Germany, Enke Verlag.
2006. *Kompendium der Allgemeinen Inneren Medizin und Pathophysiologie für Tierärzte*, Stuttgart, Parey bei MVS.
2010. *Schalm'S Veterinary Hematology*, Iowa, Wiley-Blackwell.
- Bergman Ma, C. R., Mecsas J 2010. *Pathogenesis Of Bacterial Infections In Animals*, Ames, IA, Wiley-Blackwell.
- Buddle, B. M., Herceg, M., Ralston, M. J., Pulford, H. D., Millar, K. R. & Elliott, D. C. 1988. A Goat Mortality Study In The Southern North Island. *New Zealand Veterinary Journal*, 36, 167-170.
- Cappucci Dt, D. R., Perelli-Minetti Je, Furlong J, Wilcox Ma 1978. Caprine Mastitis Associated With *Yersinia Pseudotuberculosis*. *J Am Vet Med Assoc*, 173, 1598-1590.
- Giannitti F, B. B., Brito Bp, Uzal Fa, Villanueva M, Anderson M 2014. *Yersinia Pseudotuberculosis* Infections In Goats And Other Animals Diagnosed At The California Animal Health And Food Safety Laboratory System: 1990-2012. *J Vet Diag Invest*, 26, 88-95.

- Jones To, M. N., Fox E 1982. Caprine Mastitis Associated With *Yersinia Pseudotuberculosis* Infection. *Vet Rec*, 110, 231.
- Kaasch, A. J., Dinter, J., Goeser, T., Plum, G. & Seifert, H. 2012. *Yersinia Pseudotuberculosis* Bloodstream Infection And Septic Arthritis: Case Report And Review Of The Literature. *Infection*, 40, 185-190.
- Karbe E., E. E. 1984. Ovine Abortion And Stillbirth Due To Purulent Placentitis Caused By *Yersinia Pseudotuberculosis*. *Vet. Pathol.*, 21, 601-606.
- Nikolaou, K., Hensel, A., Bartling, C., Tomaso, H., Arnold, T., Rösler, U., Ganter, M., Petry, T. & Neubauer, H. 2005. Prevalence Of Anti-Yersinia Outer Protein Antibodies

HUMANN-ZIEHANK, E.

Clinic for small ruminants and pigs, University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany.

ABSTRACT

Zinc (Zn) is an essential trace element and a functional part of many enzymes and thousands of proteins. The initial clinical symptoms of Zn deficiency are not specific. A long term Zn deficiency in small ruminants may show signs of parakeratosis of the skin with thickening and crusts as well as secondary bacterial infection. However, the laboratory approach to characterize a subclinical stage of Zn deficiency is a challenging task. The Zn concentration in plasma and serum is easy to determine, but this parameter is diagnostically less conclusive. The most promising tool seems to be the ‘diagnostic therapy’ including a period of high Zn supplementation and follow up of a clinical recovery. This overview will summarize the current knowledge on Zn metabolism and diagnostic tools available for small ruminants.

Key words: Zinc, parakeratosis, laboratory diagnostics.

INTRODUCTION

Zinc (Zn) is an essential trace element for mammals. Zn metabolism is diversified due to the fact that Zn occurs more than 300 enzymes and thousands of proteins. It is not understood whether or not these functions are hierarchical in terms of zinc utilization (Maret and Sandstead 2006). Therefore, it is a challenge to find a functional test to diagnose Zn deficiency accurately. Nonetheless, the clinical suspicion of Zn deficiency is mentioned by veterinarians quite frequently. Experimental Zn deficiency was associated with inappetence and growth depression,

impaired reproductive performance and abnormalities of the skin. The highest fraction of body Zn can be found in the muscle, followed by bone, skin, gastro-intestinal tract lung and other organs. There seems to be the capacity to redistribute Zn from large pools in muscles and bones during dietary Zn deficiency (Suttle, 2010).

Zn in small ruminant nutrition

Zn concentrations in roughage for small ruminants vary between 25-50 mg Zn/kg dry weight (dw), the content is defined predominately by the local soil composition. Wheat, barley and oat often provide low Zn concentrations (25-35 mg Zn/kg dw), whereas e.g. linseed (65-80 mg Zn/kg dw) may provide higher Zn concentrations (Suttle 2010). The recommended Zn concentration in the total ration for sheep is 40-50 mg Zn/kg dw (Kamphues, *et al.* 2009). For goats, some organizations (GfE 2003) as well as recently published data (Liu, *et al.* 2015) recommend even higher concentrations (80 mg Zn/kg dw). Long term feeding of a ration exceeding the recommendations by the factor 10 may lead to an interaction with the copper metabolism accompanied by a decrease of intestinal copper absorption and secondary copper deficiency. Moreover, in the liver, interactions between the two metals occur mainly in the cytosol, where Cu can compete with and displace Zn from metallothionein binding sites as shown e.g. for cattle (Lopez-Alonso, *et al.* 2005).

Clinical signs of Zn deficiency

Clinical Zn deficiency arises after a chronic under-nutrition with Zn. The initial clinical symptoms are not specific. The animals may show reduced appetite, a decrease in body condition, hair loss as well as a decrease in female and male fertility and reproduction rate. A long term Zn deficiency can show signs of parakeratosis of the skin with thickening and crusts as well as secondary bacterial infection, predominately around the eyes, at the ears, at the ventral abdomen and the scrotum. The intensity of the parakeratosis varies broadly.

The initial clinical symptoms of Zn deficiency may lead to the general suspicion of an imbalance in trace element supplementation. However, parakeratosis being a typical sign of a long term Zn deficiency is rare.

Diagnostic tools

The determination of the Zn concentration in the total daily ration of the animals is possible, but cost intensive. Lopez-Alonso (2012) underlined that great care needs to be taken when assessing the trace element

status of grazing livestock due to the high variability on the mineral content in forages and other own farm feeds.

The laboratory approach to diagnose Zn deficiency is a challenging task as well. The measurement itself in serum or liver tissue using e.g. atomic absorption spectrometry is a routine procedure with a satisfying inter-assay coefficient of variation (6.3%, own data) and an instrumental detection limit e.g. of about 3 µg/L (SOLAAR M, ThermoFischer, Dreieich, Germany). There is a good correlation to other methods of determination, for example with total reflection X-ray fluorescence (TXRF, $R^2 = 0.969$, own data).

But, several pre-analytic (*in-vivo*) conditions are known have a strong effects on Zn concentrations in serum. Acute phase reactions due to infectious diseases as well as stress conditions lead to a strong decrease of Zn concentration in serum, together with an increase of Zn in the liver (Dubben, *et al.* 2010). Therefore, the interpretation of the results of Zn analysis has to be done very carefully, especially if only a few animals of the herd were sampled. Suttle (2010) recommended a lowered limit of the reference range of 0.6 mg (9 µmol) Zn/L in serum to avoid over-diagnosis of Zn deprivation. Additionally, the plasma activity of the alkaline phosphatase may decrease, but, however, this parameter reacts in several other pathologic conditions as well.

The analysis of Zn in liver tissue may be an additional tool; the results should show values in between 30-75 mg Zn/kg wet weight. The analysis of the Zn concentration in bones is possible as well and was recommended for diagnosis of Zn deficiency previously, but data for small ruminants are rare. The histo-pathologic examination of the skin may support parakeratosis additionally; however, the subclinical stage of Zn deficiency is not detectable at necropsy.

As long as the laboratory diagnostic tools show several limitations as described above, the 'diagnostic therapy' to diagnose a 'zinc-responsive disorder' (Suttle, 2010) may be the best diagnostic procedure right now. This approach was successfully applied in goats showing parakeratosis (Krametter-Froetscher, *et al.* 2005). For this attempt, the dietary Zn concentration should be increased markedly for a period of about three weeks by adding ZnO or ZnSO₄ to the diet. The duration of Zn supplementation should be limited to three weeks due to interactions with the Cu metabolism. If there is a positive clinical effect (e.g. decrease of parakeratosis) within three weeks, Zn deficiency can be announced to be the underlying cause of the disease. If not, other reasons (allergic reaction, ectoparasites, fungal infection...) are more likely.

Therapy

Obvious primary Zn deficiency should be corrected using a suitable mineral supplements providing 4000-6000 mg/kg dw of inorganic Zn. Organic forms of Zn (e.g. Zn-methionine) are absorbed more efficiently. Higher bioavailability of Zn through organic sources reduces the dietary requirement (Pal, *et al.* 2010). However, the dimension and metabolic consequences of this effect require further investigations. Generally, the feeding of the supplement has to be done during all stages of the production cycle in sheep and goats. Depending on national registrations, the use of intraruminal boli may be an opportunity.

CONCLUSION

The diagnosis of primary Zn deficiency is difficult. The Zn concentration in serum may lead to misinterpretation due to secondary influence on serum Zn concentration. The most promising tool seems to be the 'diagnostic therapy' including a period of high Zn supplementation and follow up of a clinical recovery.

REFERENCES

- Dubben S, Honscheid A, Winkler K, Rink L, Haase H. 2010. Cellular zinc homeostasis is a regulator in monocyte differentiation of HL-60 cells by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *J Leukoc Biol* 87:833-844.
- GfE. 2003. Recommendations for the Supply of Energy and Nutrients to Goats. In: Frankfurt: DLG-Verlag.
- Kamphues J, Coenen M, Iben C, Kienzle E, Pallauf J, Simon O, Wanner M, Zentek J. 2009. Spurenelemente. In: *Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung*: M. & H. Schaper. p. 167.
- Krametter-Froetscher R, Hauser S, Baumgartner W. 2005. Zinc-responsive dermatosis in goats suggestive of hereditary malabsorption: two field cases. *Vet Dermatol* 16:269-275.
- Liu HY, Sun MH, Yang GQ, Jia CL, Zhang M, Zhu YJ, Zhang Y. 2015. Influence of different dietary zinc levels on cashmere growth, plasma testosterone level and zinc status in male Liaoning Cashmere goats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*:DOI: 10.1111/jpn.12292.
- Lopez-Alonso M. 2012. Trace minerals and livestock: not too much not too little. *ISRN Vet Sci* 2012:704825.
- Lopez-Alonso M, Prieto F, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Benedito JL. 2005. The role of metallothionein and zinc in hepatic copper accumulation in cattle. *Vet J* 169:262-267.
- Maret W, Sandstead HH. 2006. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 20:3-18.

- Pal DT, Gowda NK, Prasad CS, Amarnath R, Bharadwaj U, Suresh Babu G, Sampath KT. 2010. Effect of copper- and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *J Trace Elem Med Biol* 24:89-94.
- Suttle NF. 2010. Zinc. In. *Mineral Nutrition of Livestock*. Oxfordshire/ Cambridge: Cabi.



PRODUCCIÓN
CAPRINA



JIMÉNEZ, R.¹; BARRERO, B.²; ASTORGA, R.J.², LÓPEZ, M.D.³; ANDRADE, J.D.⁴ y SÁNCHEZ, M.¹

¹Dpto. de Producción Animal, Universidad de Córdoba. CU de Rabanales, 14071, Córdoba.

²Dpto. de Sanidad Animal, Universidad de Córdoba. CU de Rabanales, 14071, Córdoba.

³ACRIFLOR, Asociación Nacional de Criadores de Raza Pura Florida, 14071, Córdoba.

⁴CABRAMA, Asociación Española de Criadores de la cabra Malagueña, Casabermeja, Málaga.

RESUMEN

En este trabajo se ha realizado una tipificación de 48 explotaciones caprinas, de las razas Murciano-Granadina, Malagueña y Florida, teniendo en cuenta criterios sanitarios y productivos.

Para esta clasificación se realizaron varias visitas a las granjas en las que se cumplimentó una encuesta epidemiológica elaborada para tal fin. Por otra parte, realizamos muestreo serológico y coprológico, valoración de las ubres, y se obtuvieron muestras de leche de tanque. A partir de los datos de la encuesta y muestreo, se registraron una serie de índices sanitarios relacionados con la calidad de la leche y sanidad del rebaño, y además, se analizaron diferentes índices productivos relacionados con las instalaciones, manejo y producciones.

Las explotaciones se clasificaron en 3 categorías: en la categoría I se incluyeron las granjas con los mejores índices sanitarios y productivos, en la categoría II las que presentaron resultados intermedios, y en la categoría III las que mostraron los índices más deficientes.

Los resultados del presente estudio muestran que las explotaciones siguen una distribución normal, con el 25% de las mismas en la categoría I, el 60% en la II y sólo el 15% en la III. Una vez establecida la tipificación

se seleccionaron diferentes granjas según su categoría, representativas de cada una de las asociaciones ganaderas, para implantar medidas correctoras.

Palabras claves: Tipificación rebaños, categorización, índices sanitarios y productivos.

INTRODUCCIÓN

La cabaña caprina en el sur de España presenta un nivel sanitario deficiente, lo que limita la obtención de leche y productos transformados de calidad. En la actualidad son escasos los protocolos oficiales llevados a cabo por la Administración en pequeños rumiantes. Este hecho, conlleva a que en muchas explotaciones sea complicado controlar o erradicar enfermedades de declaración obligatoria como Brucelosis o Tuberculosis, o minimizar otras patologías de interés sanitario (Paratuberculosis, CAEV o Agalaxia Contagiosa). (Astorga y cols., 2001)

La mamitis también supone un gran problema para el sector caprino lechero. Es la enfermedad que provoca mayores pérdidas en producción lechera, disminuyendo la calidad de la leche y aumentando los costes en tratamientos veterinarios y en prevención, que son aún mayores en el caso de las mamitis subclínicas, debido a la dificultad de detectar la enfermedad.

Por todo ello, es prioritario avanzar tecnológicamente para desarrollar sistemas que ayuden a mejorar el estado sanitario y productivo del sector caprino. Una clasificación rigurosa de los rebaños supone un cimiento indispensable para poder aplicar adecuadamente medidas correctoras de actuación. (Jiménez-Granado y cols., 2015). No se han encontrado referencias bibliográficas que incluyan una tipificación conjunta con índices tanto productivos como sanitarios, sin embargo, Sánchez *et al.*, 2005, muestran algunos de los indicadores más importantes a tener en cuenta en análisis de una granja.

Este trabajo forma parte de las actividades llevadas a cabo en el proyecto CAPRITEC “Tecnologías para la Optimización de la Sanidad, Producción y Productos de la Leche de Cabra en Andalucía” (Convocatoria INNTERCONNECTA 2013). El objetivo específico de este estudio consiste en la implementación de medidas correctoras de actuación en los rebaños caprinos con respecto a su *status* sanitario y productivo. En algunos estudios consultados, Castel *et al.*, 2011, los autores hacen referencia a parámetros productivos y sanitarios tomados en las granjas para la posterior comparación entre los distintos sistemas productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la selección de explotaciones se consideraron diversos criterios; el requisito fundamental consistía en llevar a cabo el Control Lechero Oficial, con el fin de disponer de los datos históricos, tanto de calidad como de cantidad de leche. Para la elección de los animales a muestrear, se conocieron previamente las épocas de parición y la lotificación de los animales (primíparas y multíparas).

En el estudio participaron 48 granjas pertenecientes a distintas agrupaciones de razas puras caprinas. La distribución fue la siguiente: 9 explotaciones de la raza Murciano-Granadina, pertenecientes al grupo caprino de COVAP, 20 ganaderías de raza Malagueña de la Asociación de Criadores de Raza Malagueña (CABRAMA), y 19 granjas de raza Florida pertenecientes a la Asociación Nacional de ganado Caprino de raza Florida (ACRIFLOR).

Una vez preseleccionadas las granjas, éstas se visitaron para la cumplimentación de una encuesta generada específicamente para este proyecto (Dpto. Producción Animal); asimismo, realizamos un muestreo serológico individual (Win epi 2.0) y un estudio coprológico aleatorio. Finalmente, se valoraron las ubres visualmente y mediante palpación, y se recogieron muestras de leche de tanque.

Registro de Índices Sanitarios

En primer lugar se analizaron una serie de índices relacionados con la calidad de la leche: recuento de células somáticas (RCS), recuento de bacterias totales (BT), presencia de estafilococos (ECP/ECN) y de otros patógenos (*Pseudomonas spp.*, Enterococos, Enterobacterias, *Trueperella pyogenes*, etc) (Lab. CICAP, COVAP, Pozoblanco).

En segundo lugar se valoraron criterios relacionados con la seroprevalencia de patógenos de especial interés en este ganado (Paratuberculosis, CAEV), mediante técnicas de ELISA indirecto (Dpto. Sanidad Animal, Universidad de Córdoba), *status* sanitario respecto a enfermedades de declaración obligatoria como Brucelosis y Tuberculosis. Finalmente, se indagó la presencia de *Mycoplasma spp.* mediante cultivos y PCR (Lab. CICAP, COVAP, Pozoblanco).

Por otra parte, recopilamos información relativa a los programas de vacunación y desparasitación, y se realizaron análisis coprológicos a partir de *pooles* de muestras obtenidas a partir de las granjas analizadas (Dpto. Sanidad Animal, Universidad de Córdoba).

Registro de índices productivos

Las instalaciones se valoraron teniendo en cuenta los siguientes *ítems* de la encuesta: higiene de la cama, ventilación, áreas de paridera, sala de espera, sala de ordeño, lechería, tipo de lactancia, local de lactancia artificial, control de temperatura y humedad, nodriza automática e higiene y utillaje.

Otro índice productivo considerado, fue el nivel de fibra efectiva presente en la ración ofrecida en cada granja. Y por último, la producción láctea normalizada a 240 días de lactación se obtuvo a partir de los datos recogidos de los controles lecheros oficiales previos.

Categorización global

La clasificación de las granjas se realizó a través de los datos recopilados de las encuestas de campo y muestreos específicos. Para la categorización global se seleccionaron los siguientes criterios sanitarios y productivos: recuento de células somáticas, bacteriología total, aislamiento de Estafilococos, presencia de otros patógenos, seroprevalencia frente a CAEv y Paratuberculosis, presencia de micoplasmas, *status* sanitario frente a Brucelosis y Tuberculosis, plan de profilaxis médica, instalaciones, alimentación y niveles de producción. A su vez cada uno de estos criterios constaba de tres niveles: nivel 1 (bueno, 1 punto), nivel 2 (regular, 2 puntos) y nivel 3 (deficiente, 3 puntos). De tal forma que una granja con todos los *ítems* en el nivel 1 tendría una puntuación de 1 (aquellas que presentan los mejores índices sanitarios y productivos), y en el otro extremo, una granja con todos los *ítems* en el nivel 3 tendría una puntuación 3 (explotaciones con índices sanitarios y productivos más deficientes).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los parámetros investigados en el apartado de material y métodos, la categorización global resultó de la siguiente forma:

- Granjas categoría/nivel 1: Promedio de *ítems* < 1,503
- Granjas categoría/nivel 2: Promedio de *ítems* 1,503-1,837
- Granjas categoría/nivel 3: Promedio de *ítems* >1,837

En la siguiente tabla se muestra la categorización global de las granjas estudiadas:

Categoría	Nº granjas (%)	COVAP	CABRAMA	ACRIFLOR
I	12 (25%)	0	10	2
II	29 (60%)	7	7	15
III	7 (15%)	2	3	2

Los resultados de nuestra investigación muestran que la situación de las explotaciones caprinas objeto de estudio sigue una distribución normal en la mayoría de los criterios estudiados, así como en la categorización global. La mayor parte de las explotaciones se encuentran en niveles intermedios tanto en aspectos sanitarios como productivos, existiendo un menor número de ganaderías tanto en el nivel superior como en el inferior.

CONCLUSIONES

- Las ganaderías en el nivel 1 son las que se encuentran con un mejor *status* sanitario y mayor desarrollo técnico. Por ello, el plan de actuación y recomendaciones serán mínimas y de fácil ejecución, con el objetivo de no perder este nivel.
- Para la mayoría de ganaderías que se encuentran en nivel 2 el plan de actuación y las recomendaciones futuras serán algo más complejas. No obstante son factibles de llevar a cabo a nivel de granja siempre que exista un compromiso e interés por parte de los ganaderos. Por lo que a corto o medio plazo podrán ascender de categoría.
- Las explotaciones encuadradas en el nivel 3 deben corregir bastantes déficits sanitarios y productivos. Por lo que, el plan de actuaciones propuesto conllevarán acciones más contundentes y con mayor grado de dificultad técnica y económica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CAPRITEC (Programa FEDER-INNTERCONECTA), y llevado a cabo gracias a la colaboración de ganaderos miembros de las asociaciones de caprino CABRAMA, COVAP y ACRIFLOR.

BIBLIOGRAFÍA

- Astorga, R.J. y cols. 2001. Patología de los pequeños rumiantes. Vol XXXI. Ciencias Veterinarias. Consejo General de Colegios veterinarios de España. Edita Publex Studio. 144 págs.
- Castel, J.M., Mena, Y., Ruiz, F.A., Camuñez-Ruiz, J., Sánchez-Rodríguez, M. 2011. Changes occurring in dairy goat production systems in less favoured areas of Spain. *Small Ruminant research* 96: 83-92.
- Guía de prácticas correctas de higiene. Caprino de carne y leche. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2007.
- Jiménez-Granado, R., Sánchez-Rodríguez, M.; Arce, C. and Rodríguez-Estévez, V. 2014. Factors affecting somatic cells count in dairy goats: A Review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12: 133-150.

- Jiménez-Granado, R., Barrero, B., Astorga, R.J., Andrade, D., López, M^a D., Reguillo, L., Rodríguez, V y Sánchez, M. 2015. Optimización del sector caprino lechero: tipificación de granjas y mejora de los aspectos sanitarios y productivos. Revista Tierras Caprino. N^o 10. Pág. 38-42.
- Sánchez, M., Gil, M.J., Fernández, E. y Muñoz, E. Adaptation of FAO/CIHEAM indicators for dairy systems to dairy goats groups in Western Andalucía. 5^o International CIHEAM Seminars. Technic-economic analysis of the sheep and goat production system: Methodology and appraisal for development and prospect. Sevilla, 16-18 Junio, 2005.
- Sánchez, M., Gil, M.J., Fernández, E., Muñoz, M.E. 2006. Application of FAO/CIHEAM indexes for dairy systems to dairy goat groups in Western Andalusia. Options Méditerranéennes, Série A 70, 187–192.

CATEGORIZATION OF CAPRINE FARMS IN THE SOUTH OF SPAIN (I): SANITARY AND PRODUCTION ASSESSMENT

SUMMARY

In this study a classification of 48 caprine farms of Murciano-Granadina, Malagueña and Florida breeds was carried out considering both health and productive *status*.

In order to establish the categorization, the farms were visited to complete an inquiry, realize a serological and stool survey, examine the udders and collect samples from the tank milk. Some sanitary indexes related to the milk quality and herd health were registered; and on the other hand, different productive indexes related with the farm facilities were investigated.

Farms were classified in 3 levels: level I, farms with the best sanitary and productive indexes; level II, farms with intermediate results; and level III, farms that showed the most deficient indexes. After establishing the categorization, different farms were selected according to their category in order to implement corrective measures.

Key words: Herd classification; categorization; sanitary and production indexes.

BARRERO, B.¹; JIMÉNEZ, R.²; SÁNCHEZ, M.²; GÓMEZ-LAGUNA, J.³; REGUILLO, L.⁴ y ASTORGA, R.J.¹

¹Dpto. Sanidad Animal, Universidad de Córdoba. CU Rabanales, 14071 Córdoba.

²Dpto. Producción Animal, Universidad de Córdoba. CU Rabanales, 14071 Córdoba.

³CICAP- Centro Tecnológico de Investigación y Calidad Agroalimentaria del Valle de los Pedroches. Pozoblanco, 14400 Córdoba.

⁴I+D+i COVAP- Cooperativa ganadera del Valle de los Pedroches. Pozoblanco, 14400 Córdoba.

RESUMEN

En este estudio se ha llevado a cabo una categorización inicial de 48 explotaciones caprinas en base a sus características sanitarias y productivas. Una vez conocidos los déficits de las 48 explotaciones, se elaboraron informes dirigidos a cada uno de los ganaderos implicados en el proyecto, donde se detallaron todas las recomendaciones a establecer en cada granja. De esta forma se pretende que el ganadero aplique las medidas para mejorar la situación de su granja, y así poder ascender de categoría según los criterios establecidos en el diseño del proyecto. De estas 48 granjas se han seleccionado 15, según su categoría, para la implementación de una serie de medidas correctoras desde el punto de vista sanitario y productivo. A su vez, en 2 explotaciones pertenecientes a la categoría III se ha llevado a cabo la inoculación de vacunas autógenas para el control de las mamitis provocadas por ECP y ECN. Finalmente, tras la tipificación de las granjas, se ha diseñado una aplicación informática (plantilla Excel) basada en los criterios sanitarios y productivos manejados en este proyecto, y que permite establecer de forma práctica un modelo predictivo de clasificación de nuevas granjas.

Palabras claves: Tipificación, implementación, medidas correctoras.

INTRODUCCIÓN

La cabaña caprina en el sur de España presenta un nivel sanitario deficiente, lo que limita la obtención de leche y productos transformados de calidad. En la actualidad son escasos los protocolos oficiales llevados a cabo por la Administración en pequeños rumiantes. Este hecho, conlleva a que en muchas explotaciones sea complicado controlar o erradicar enfermedades de declaración obligatoria como Brucelosis o Tuberculosis, o minimizar otras patologías de interés sanitario (Paratuberculosis, CAEV o Agalaxia Contagiosa). (Astorga y cols., 2001)

La mamitis también supone un gran problema para el sector caprino lechero. Es la enfermedad que provoca mayores pérdidas en producción lechera, disminuyendo la calidad de la leche y aumentando los costes en tratamientos veterinarios y en prevención, que son aún mayores en el caso de las mamitis subclínicas, debido a la dificultad de detectar la enfermedad.

Por todo ello, es prioritario avanzar tecnológicamente para desarrollar sistemas que ayuden a mejorar el estado sanitario y productivo del sector caprino. Una clasificación rigurosa de los rebaños supone un cimiento indispensable para poder aplicar adecuadamente medidas correctoras de actuación (Jiménez y cols., 2015).

Este trabajo forma parte de las actividades llevadas a cabo en el proyecto CAPRITEC “Tecnologías para la Optimización de la Sanidad, Producción y Productos de la Leche de Cabra en Andalucía” (Convocatoria FEDER-INNTERCONECTA 2013). El objetivo específico de este estudio consiste en la implementación de medidas correctoras de actuación en los rebaños caprinos con respecto a su *status* sanitario y productivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una vez establecida la tipificación global de las 48 explotaciones incluidas en este estudio (comunicación I), se seleccionaron 15 granjas según su categoría para la implementación de una serie de medidas correctoras desde el punto de vista sanitario y productivo. De esta forma, se eligieron cuatro granjas de la categoría I, seis de la categoría II y cinco de la categoría III, representativas de las tres Asociaciones Caprinas COVAP, CABRAMA y ACRIFLOR.

Las medidas correctoras diseñadas en función de los déficits señalados estaban dirigidas a mejorar los siguientes *ítems* del estudio: calidad de la leche, enfermedades infecciosas (Paratuberculosis, CAEV, Agalaxia Contagiosa), enfermedades sometidas al PNEEA (Brucelosis),

Tuberculosis, profilaxis médica (vacunación/desparasitación), instalaciones, alimentación y producción láctea.

En dos granjas pre-seleccionadas de categoría III se elaboraron vacunas autógenas a partir de cepas aisladas de ECP y ECN (Dpto. Sanidad Animal), con el fin de mejorar a medio-largo plazo los parámetros higiénicos y sanitarios. El protocolo de vacunación en todos los casos fue el siguiente: 1ª dosis a las dos primeras semanas del período de secado con revacunación a los 21 días. En la 2ª y la 6ª semana postparto se recogen muestras de leche para indagar RCS, patógenos específicos y bacterias totales, al igual que se hizo en el momento previo a la vacunación. La autovacuna se elaboró con las cepas aisladas e identificadas fenotípicamente: *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. caprae* y *S. xylosus*.

Por último, y tras la tipificación de todas las granjas, se ha diseñado una aplicación informática sencilla (plantilla Excel) basada en los criterios sanitarios y productivos manejados en este proyecto, que permite establecer de un forma práctica un modelo predictivo de clasificación de nuevas granjas. De esta forma, el ganadero con la ayuda de su técnico veterinario puede conocer tras cumplimentar todos los *ítems*, la categoría en la que se encuentra su explotación. Asimismo, pueden obtener una serie de recomendaciones básicas para aquellos puntos más deficitarios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los déficits sanitarios y productivos detectados en cada una de las 48 explotaciones, así como las diferentes recomendaciones propuestas fueron notificados mediante informes a los responsables técnicos de las distintas asociaciones, que a su vez transmitieron a cada uno de los ganaderos implicados en el proyecto.

En el caso de las 15 granjas seleccionadas, tras las recomendaciones y aplicación de medidas correctoras, fueron nuevamente visitadas para constatar *in situ* la mejora según los déficits que presentaban.

Por otra parte, se llevó a cabo un muestreo aleatorio de leche del 10% de los animales en producción. De esas muestras se obtuvieron resultados de recuento de células somáticas y bacterias totales, así como de aislamiento de ECP/ECN y otros patógenos. Tras la realización de estos ensayos comprobamos que las granjas mostraban una mejoría en todos los índices mencionados, constatando que la implementación de estas medidas correctoras incide positivamente en los parámetros higiénico-sanitarios de la leche, tal y como han constatado Morand-Fehr y cols. (2007).

En el caso de las autovacunas no hemos podido probar su eficacia, ya que aún no disponemos de los resultados de las muestras de leche recogidas a las dos y seis semanas postparto, tal y como indica el protocolo. Experiencias previas muestran que el uso de autovacunas mejora los resultados de los parámetros higiénico-sanitarios de la leche, reduciendo significativamente los casos de mamitis clínicas o subclínicas (Kautz y cols., 2014; Luque y cols., 2009).

CONCLUSIONES

- El plan de actuación y recomendaciones para las explotaciones que se encuentran en la categoría I han sido mínimas y de fácil ejecución. Por el contrario, para las ganaderías que se encuentran en las categorías II y III el plan de actuaciones propuesto conllevarán acciones más contundentes y con mayor grado de dificultad técnica y económica.
- La implementación de medidas correctoras, una vez conocidos los déficits sanitarios y de producción en cada granja, mejoraron significativamente los parámetros de calidad de la leche, así como los aspectos de manejo y sanidad.
- El diseño de una aplicación informática sencilla basada en los criterios sanitarios y productivos usados en este proyecto, permite establecer de un forma práctica un modelo predictivo de clasificación de nuevas granjas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CAPRITEC (Programa FEDER-INNTERCONECTA 2013), y llevado a cabo gracias a la colaboración de los ganaderos miembros de las asociaciones de caprino CABRAMA, COVAP y ACRIFLOR.

BIBLIOGRAFÍA

- Astorga, R.J. y cols. 2001. Patología de los pequeños rumiantes. Vol XXXI. Ciencias Veterinarias. Consejo General de Colegios veterinarios de España. Edita Publex Studio. 144 pág.
- Guía de prácticas correctas de higiene. Caprino de carne y leche. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2007.
- Jiménez, R., Barrero, B., Astorga, R.J., Andrade, D., López, M^aD., Reguillo, L., Rodríguez, V y Sánchez, M. 2015. Optimización del sector caprino lechero: tipificación de granjas y mejora de los aspectos sanitarios y productivos. Revista Tierras Caprino. N^o 10. Pág. 38-42.

- Kautz, F.M., Nickerson, S.C., Ely, L.O. 2014. Use of staphylococcal vaccine to reduce prevalence of mastitis and lower somatic cell counts in registered Saanen dairy goat herd. *Research in Veterinary Science*. 97, 18-19.
- Luque, I., Huerta, B., León, J., Caro, M., Quirós, S y Astorga, R.J. 2009. Mamitis por estafilococos en pequeños rumiantes: Estudio de prevalencia y sensibilidad antimicrobiana. *Revista Producción Animal*. N° 257. Pág. 15-22.
- Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M and Le Frileux, Y. 2007. Influence of farming and feeding system on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 20-34.

CATEGORIZATION OF CAPRINE FARMS IN THE SOUTH OF SPAIN (II): IMPLEMENTATION OF CORRECTIVE MEASURES

SUMMARY

In this study a categorization of 48 caprine farms was conducted considering their health and productive *status*. Once herds' deficits were found out, reports directed to stockbreeders implicated in this study were elaborated. In these reports, the corrective measures to establish in each farm were detailed. The farmers were informed to apply the measures to improve the situation of their farms and make them be classified in higher categories, according to the guidelines established during the design of the project. Of these 48 farms, 15 were selected considering their category to implement corrective measures from a healthy and productive point of view. At the same time, in 2 herds belonging category II, an inoculation of autogenous vaccines to mastitis control cause by CoNP and CoNS was carried out.

Finally, after classifying every farm, an easy computer application (Excel spread sheet) based on health and productive guidelines used in this study was designed. In a practical way, this application allows establishing a predictive modelling to categorize new herds.

Key Words: Categorization; implementation; corrective measures.

¿LAS CABRAS QUE MÁS LECHE PRODUCEN SON LAS MÁS LENTAS O LAS MÁS RÁPIDAS EN ORDEÑARSE?

BLASCO, E.³; PERIS, C.¹; VICENTE, C.²; VIDAL, G.¹; PEREZ-BAENA, I.¹ y GÓMEZ, E.A.³

¹ICTA. Universitat Politècnica de València. Camí de Vera s/n. 46020 València.

²Asociación de Ganaderos AMURVAL. Santísima Trinidad 1. 46460 Silla. Valencia.

³CITA. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 12400 Segorbe. Castellón.

RESUMEN

Se estudiaron las relaciones observadas entre los datos del control lechero oficial y los flujos de leche en el primer minuto en cabras Murciano Granadinas de AMURVAL. No hay relación aparente entre la velocidad de ordeño y el contenido en grasa o proteína, ni tampoco con el logaritmo del recuento de células somáticas. La correlación fue baja y positiva (0,18) entre leche ordeñada y flujo de leche en el primer minuto. Se observó una mayor proporción de hembras de flujos altos en las cabras de alta producción diaria (16%) que en total de la población. No se observaron diferencias en la proporción de las diferentes velocidades de ordeño entre el 10% y el 30% de las cabras de mayor producción diaria. Pese al mayor flujo medio de las de mayor producción, sigue apareciendo un 20% de cabras lentas (frente al 26% en el conjunto de la población).

Palabras clave: Flujo de leche, producción de leche, Murciano Granadina, cabra.

INTRODUCCIÓN

La mano de obra, especialmente dedicada al ordeño, es el segundo elemento que determina el coste de producción de la leche de cabra después de los de alimentación (Ibáñez *et al.*, 2011). Una manera de reducir éste es aumentar la homogeneidad de los tiempos de ordeño (Goyena *et al.*, 1994), mejorando las producciones de leche sin penalizar las composiciones. El ordeño en grupo conlleva depender del animal más lento para volver a llenar o no la plataforma. Producción y composición ya son caracteres considerados en los actuales programa de mejora genética de las razas caprinas españolas, haciendo hincapié inicial en producción frente a composición (Blasco *et al.*, 2015).

Es necesario conocer, en un primer paso, la relación observada entre las producciones diarias y los flujos de ordeño que es el objetivo de este trabajo. Se utiliza el flujo de ordeño en el primer minuto como un indicador de la velocidad considerando todo el ordeño (Ilhai *et al.*, 2000). En una segunda fase, que va más allá de esta comunicación, hemos de plantearnos si existe o no una selección indirecta de los flujos de ordeño al seleccionar por producción y composición estudiando su base genética.

MATERIAL Y MÉTODOS

Partimos de una base de datos con 2446 registros correspondientes a cabras Murciano Granadinas (MG) alojadas en 20 ganaderías de AMURVAL. Se intentó tomar dos registros por animal, preferentemente en la misma lactación, recogiendo el dato de la producción (LT) (medidor volumétrico Tru-Test[®]) y tomando una muestra para su envío al Laboratorio Interprofesional Lechero de la Comunidad Valenciana (LICOVAL) para analizar la composición (MilkoScan FT6000 (FossElectric[®], Hillerød, Dinamarca)) y el recuento de células somáticas (Fossomatic 5000 (FossElectric[®], Hillerød, Dinamarca)). Con ayuda de un cronómetro se registró la velocidad de ordeño en el primer minuto, contando desde la aparición de la leche en el colector. Como medida relacionada se define el flujo en el primer minuto como los litros de leche en el medidor tras un minuto de haber aparecido la leche en el colector (MF1). Se utilizaron asimismo las bases de datos de AMURVAL del Control Lechero Oficial (BOE, 2012) para obtener los datos de producción y composición. Se estimaron las correlaciones de Pearson entre los caracteres observados y se analizaron las tablas de contingencia con test chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los registros condujeron a valores medios del flujo de leche en el primer minuto de 0,7 L/minuto (variando entre 0,1 y 2,1 como se observa en Figura 1), valores similares a trabajos anteriores en MG y menores a los observados en razas canarias. En la Figura 2 se presentan las producciones de leche por ordeño, que variaron entre 0,4 y 5,5 L/ordeño, con un promedio de 1,9 L/ordeño, similar a otros trabajos en raza MG (Vidal *et al.*, 2008).

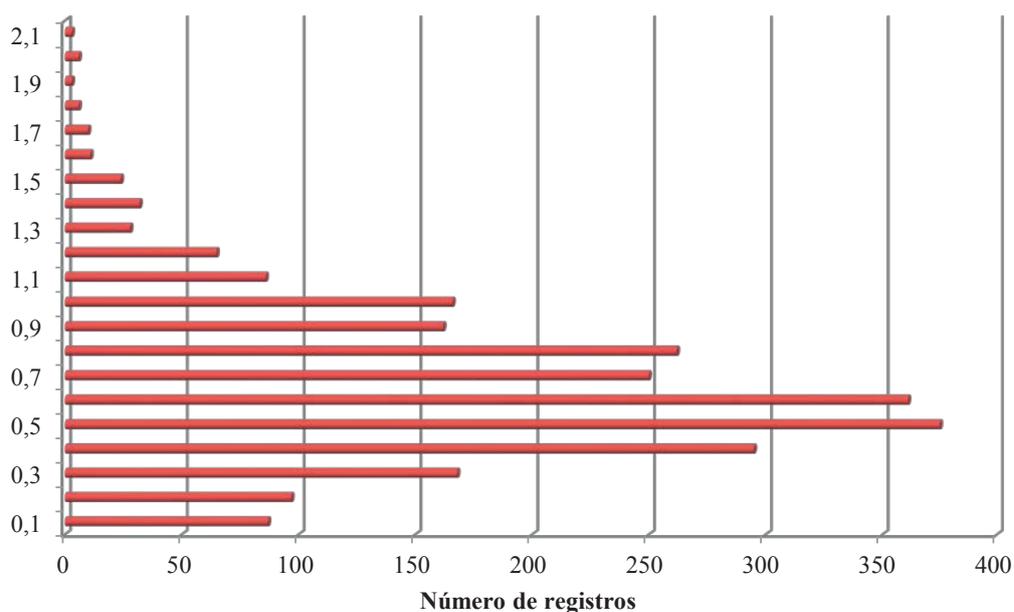


Figura 1. Distribución del flujo de leche en el primer minuto de cabras Murciano Granadinas.

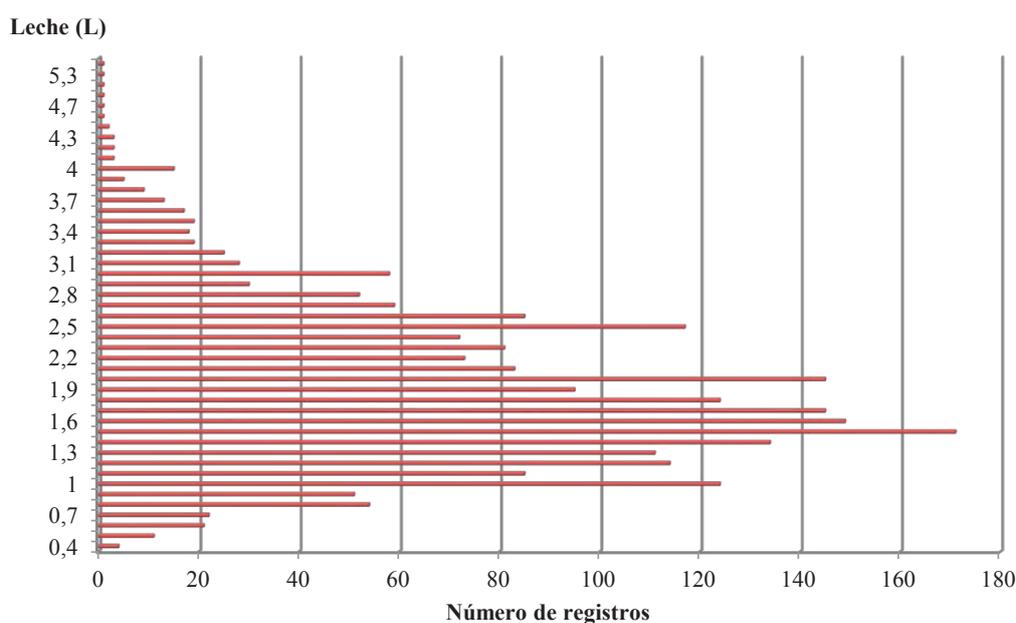


Figura 2. Producción de leche total en el ordeño.

A nivel global, hay una correlación baja y positiva entre producción diaria y flujo de leche en el primer minuto (0,18 en Tabla 1), similar a la obtenida por Vidal *et al.* (2008). No hay estimas de correlación significativamente diferentes de cero ni con la composición de la leche del control (ni grasa ni proteína) de acuerdo con las de Vidal *et al.* (2008), ni con el recuento de células somáticas (utilizando su logaritmo) como se observa en Tabla 1. También fue despreciable la correlación entre el flujo y la producción de leche de la lactación en que se tomaron los controles.

Tabla 1. Correlaciones fenotípicas del flujo en el primer minuto (MF1) con algunos caracteres de interés: leche total por ordeño (LT), porcentaje de grasa (%grasa) y proteína (%proteína) de la leche, logaritmo del recuento de células somáticas (logRCS) y producción de leche estandarizada para el total de la lactación (KLFE).

	LT	%grasa	%proteína	Log RCS	KLFE
MF1	0,18	-0,01*	-0,08*	0,02*	0,05*
(N)	2446	2314	2317	1989	2248

* valores no significativamente diferentes de cero.

En la Tabla 2 aparece la distribución (y porcentajes, en su caso) del número de registros en cada rango de flujo de leche en el primer minuto, tanto a partir del subconjunto de los datos con aproximadamente el 10% de mayores (≥ 3 L/ordeño) y menores (≤ 1 L/ordeño) producciones de leche por ordeño como el subconjunto del 30% de mayores ($\geq 2,2$ L/ordeño) y menores ($\leq 1,5$ L/ordeño) producción de leche por ordeño. Por la propia definición, no pueden aparecer flujos en el primer minuto superiores a la producción diaria.

Sorprendentemente, el porcentaje de registros en los diferentes valores de flujo en el primer minuto no difirió comparando entre el 10% y el 30% de los mejores datos de producción (Tabla 2, $P < 0.05$). En ambos casos, más del 50% de los registros de las cabras con alta producción diaria tenían flujos menores o iguales a 0,7. En la Tabla 2, si comparamos la distribución del número de registros en el 30% de las cabras de más producción y el total de los datos (que engloban a los anteriores) sí aparecen diferencias significativas ($P < 0.05$), con mayor número de cabras de más flujo de leche ($> 1,5$) en la columna del mejor 30% las mejores y un menor número en flujos bajos ($\leq 0,4$). Goyena *et al.* (1994) ya indicaban que un 21% de las cabras de alta producción tenían velocidades de ordeño inferiores a la media de su rebaño. Sin embargo, hemos de apreciar que en el total de la población la proporción de registros de baja velocidad de flujo era del 26% mientras que en cabras de altas producciones diarias el porcentaje fue del 21%. Hay una baja correlación fenotípica entre producción de leche diaria y flujo medio

en el primer minuto de ordeño. Es necesario aportar conocimiento sobre las relaciones genéticas entre los caracteres de producción, composición y sanidad con la velocidad de ordeño, estudiando tanto la posible selección indirecta realizada como la posibilidad de incluir este carácter en los programas de selección de caprino lechero. Todavía hay un porcentaje elevado de cabras de buenas o altas producciones con flujos bajos.

Tabla 2. Número de registros por producción y flujo de leche en el primer minuto (L/minuto) en el conjunto de la población, en el 10 y 30% de alta producción y en el 10% y 30% de baja producción.

Flujo	10% Alta ≥3 L/ordeño	10% Baja ≤1 L/ordeño	30 % Alta ≥2,2 L/ordeño	30% Baja ≤1,5 L/ordeño	Conjunto
0,1-0,4	53 (20%)	88	162 (21%)	304	581 (26%)
0,5-0,7	92 (35%)	134	295 (36%)	382	893 (40%)
0,8-1	72 (27%)	41	218 (27%)	174	530 (24%)
1-1,5	46 (17%)	-	108 (13%)	38	210 (9%)
>1,5	-	-	26 (3%)	-	34 (1%)

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto INIA RTA2010-0132 y la beca del Subprograma FPI-INIA2011-042 de E. Blasco, ambos con financiación FEADER. Además, los autores quieren agradecer a los ganaderos de AMURVAL la disposición desinteresada de sus animales e instalaciones para la realización de los trabajos experimentales.

BIBLIOGRAFÍA

- BOE, 2012. RD 660/2012 de 13 de abril por el que se modifican determinados anexos del Real Decreto 368/2005 de 8 de abril por el que se regula el control oficial del rendimiento lechero para la evaluación genética en las especies bovina, ovina y caprina.
- Blasco *et al.*, 2015. Inclusión de nuevos caracteres en los programas de mejora genética de razas caprinas lecheras cinética de ordeño, morfología, fertilidad y resistencia a mamitis. *Tierras Caprino* 11:60-64.
- Goyena *et al.*, 1994. Estudio preliminar sobre la velocidad de emisión de leche como carácter económico en esquemas de selección en ganado caprino murciano-granadino. XVIII Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, pp. 555-558.
- Ibañez *et al.*, 2011. Distribución de costes de producción en explotaciones de caprino lechero de la Comunidad Valenciana. XIV Jornadas sobre Producción Animal, pp. 100-102.

- Ilahi *et al.*, 2000. Genetic variability in milking speed of dairy goats. *Genetics Research* 75:315–319.
- Vidal *et al.*, 2008. La velocidad de ordeño en cabras Murciano–Granadinas. XXXIII Jornadas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, pp. 149–154.

ARE THE MOST PRODUCTIVE GOATS THE SLOWEST OR THE QUICKEST IN THE MILKING?

SUMMARY

Relationships between milk recording traits and milk flow in the first minute were studied in Murciano-Granadina breed goats belonging to AMURVAL herds. There was not apparent relationship between milking speed and fat or protein content nor the logarithm of somatic cell count. Correlation between milked milk and milk flow in the first minute was low and positive (0,18). The proportion of goats with high flows was greater in high milk yield goats (16%) than in the total population (10%). No differences were observed in the proportions of milking speed between top 10% and top 30% of the records. Despite a higher averaged milk flow in the goats with higher milk yield, a worrying 20% of low flow milk records were still observed.

Key words: milking flow, milk yield, goat.

EFFECTO DE LOS RETIRADORES AUTOMÁTICOS DE PEZONERAS (ACR) EN EL ESTADO DEL PEZÓN DE LOS PEQUEÑOS RUMIANTES

BUESO-RODENAS, J.¹; ROMERO, G.¹; ARIAS, R.²; RODRÍGUEZ A.M.³; GASCÓ M.P.¹ y DÍAZ, J.R.¹

¹Dpto. Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández (UMH). Ctra. de Beniel km 3.2. 03312 Orihuela (Alicante).

²CERSYRA. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de Castilla La Mancha. Avda. del Vino, 10. 13300. Valdepeñas (Ciudad Real).

³AGRAMA. Instalaciones del ITAP. Avda. Gregorio Arcos s/n. 02006 Albacete.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto de los retiradores automáticos de pezoneras (ACR) en el estado del pezón de ovejas de raza Manchega y cabras de raza Murciano-Granadina tras el ordeño, comparando diferentes combinaciones de los parámetros de funcionamiento de estos dispositivos (flujo de corte –FC- y tiempo de demora – TD-) con el ordeño con retirada manual de pezoneras. Se realizó un experimento con 96 cabras de raza Murciano-Granadina y otro con 108 ovejas de raza Manchega. En cada uno de ellos se emplearon tres lotes de características similares. Tuvo lugar un periodo de 15 días donde todos los animales se ordeñaron sin ACR. A continuación y, durante el resto de la lactación, el primero de los lotes de cada una de las especies se ordeñó sin ACR y los otros dos con las combinaciones óptimas de FC y TD obtenidas en experimentos anteriores. Se realizaron muestreos mensuales sobre el estado del pezón mediante ecografías antes y después del ordeño. En los resultados se observó que el empleo de ACR disminuyó el efecto del ordeño mecánico produciendo una menor congestión en los tejidos del pezón.

Palabras clave: retirador automático de pezoneras, oveja Manchega, cabra Murciano-Granadina, estado del pezón.

INTRODUCCIÓN

La instalación de retiradores automáticos de pezoneras (*automatic cluster removers*, ACR) en las salas de ordeño de pequeños rumiantes es una opción cada vez más tenida en cuenta. En estas especies se han realizado varios estudios (Bueso-Ródenas *et al.*, 2014a; Bueso-Ródenas *et al.*, 2014b) con los parámetros de funcionamiento de estos dispositivos (flujo de corte, FC, y tiempo de demora, TD). En ovejas de raza Manchega, se concluyó que el FC y TD óptimos se sitúa en torno a 150 g/min y 20 s y 200 g/min y 10 s. En cabras de raza Murciano-Granadina se concluyó que la programación óptima de los ACR era un FC de 100 ó 150 g/min y un TD de 10 s.

Los cambios en el estado del pezón producidos por el ordeño (congestión) pueden incrementar el riesgo de mamitis (Hamann *et al.*, 1994). La ecografía de pezones ha resultado ser una excelente herramienta para evaluar estos cambios (Díaz *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto de los ACR en el ordeño de ovejas de raza Manchega y cabras de raza Murciano-Granadina sobre el estado del pezón de los animales, comparando diferentes combinaciones de los parámetros de funcionamiento de estos dispositivos (flujo de corte y tiempo de demora) con el ordeño convencional con retirada manual de pezoneras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos realizados con cabras Murciano-Granadinas tuvieron lugar en la granja de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández de Elche (España) que dispone de una máquina de ordeño de la marca GeaFarm Technologies® (Bonn, Alemania) en una sala tipo Casse 1 x 12 con conducción de leche en línea baja equipada con ACR (Lactoflow®). Los experimentos con ovejas Manchegas se realizaron en la Finca La Nava del Conejo (Valdepeñas), gestionada por la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA), que dispone de una máquina de ordeño de la marca DeLaval® (Suecia) instalada en línea alta en una sala de tipo CASSE (2x18x18) equipada con medidores de leche- ACR MM25® (DeLaval®, Suecia). Las cabras se ordeñaron una vez al día, a las 9:00h y los parámetros empleados fueron: nivel de vacío de 40 kPa, 90 pulsaciones/min y una relación de pulsación del 60%. En las ovejas se ordeñaron dos veces al día, a las 8:00h y a las 17:00h con nivel de vacío 38 kPa, 180 pulsaciones por minuto y una relación de pulsación del 50%.

Los parámetros de funcionamiento del ACR ensayados en las cabras fueron los FC de 100 g/min y 150 g/min de flujo de corte combinados con TD 10 s en ambos casos (T10010 y T15010, respectivamente). En el caso de las ovejas fueron FC 150 g/min y TD de 20 (T15020) y FC 200 g/min y TD 10 s (T20010). En ambas especies, existió un tercer lote control en el que la retirada de pezoneras se realizaba de forma manual (TC).

El diseño experimental llevado a cabo fue similar en ambas especies. Se seleccionaron 3 lotes homogéneos de 32 cabras de raza Murciano-Granadina y 3 lotes de 36 ovejas de raza Manchega a partir de un muestreo preexperimental que se realizó a los 15 días tras el parto. 15 días después comenzó el periodo experimental y cada uno de los 3 lotes se ordeñaba según los tratamientos mencionados, realizándose muestreos mensuales hasta el final de la lactación (7 muestreos en el caso de las cabras y 5 en el caso de las ovejas).

La rutina de ordeño seguida en TC consistió en: puesta de pezoneras, ordeño máquina, apurado a máquina, retirada manual de pezoneras y baño de pezones con solución desinfectante. La rutina de ordeño seguida en los tratamientos ACR fue similar a la seguida en TC a excepción de que la retirada de pezoneras se realizó por medio de dichos dispositivos y no se realizaba apurado a máquina.

Para el estudio del estado del pezón de los animales se realizaron ecografías antes y después del ordeño del pezón derecho de cada animal. A partir de las medidas realizadas siguiendo el procedimiento de Díaz *et al.* (2013) se obtuvieron los incrementos de espesor y de área de distintas partes del pezón, expresados en porcentaje, mediante la fórmula siguiente: Incremento (I) % = [(Medida después del ordeño – Medida antes del ordeño)/ Medida antes del ordeño] x 100. Las variables obtenidas fueron: Incremento del espesor de las paredes del pezón (IAB, %); Incremento del área del pezón (IAP, %); Incremento del área total del pezón (IAPT, %); Incremento de la longitud del esfínter del pezón (IESF, %).

Para el estudio de la relación de las variables dependientes relativas al estado del pezón (IAB, IAP, IAPT, IESF) con los tratamientos, tanto en cabras (TC, T10010 y T15010) como en ovejas (TC, T15020 y T20010) se utilizaron modelos lineales mixtos (Proc. Glimmix, SAS 9.2., 2012). Los efectos fijos considerados fueron el tratamiento empleado (3 niveles; en el caso de las cabras: TC, T10010, T15010; en el caso de las ovejas: TC, T15020, T20010), el mes de lactación (7 niveles en el caso de las cabras: 1 al 7 y 5 niveles en el caso de las ovejas: 1 al 5), además sus respectivas covariables preexperimentales (valores de las variables estudiadas registrados en el muestreo preexperimental). Se consideró

el efecto aleatorio del animal y se utilizó una estructura de covarianza de tipo “simetría compuesta” para considerar las medidas repetidas en el tiempo del mismo animal. El modelo que utilizó esta estructura fue el que obtuvo un mayor ajuste de las variables comparado con otros modelos, considerando los criterios BIC (Criterio de información bayesiano) y AIC (Criterio de información de Aikake), suministrados por el análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados observados en ambas especies (Tabla 1) apuntaron a un menor grado de congestión y edema del pezón sufrido por los animales que se ordeñaron con retirada automática de pezoneras.

Tabla 1. Efecto de los diferentes tratamientos empleados en las variables relativas al estado del pezón.

ESPECIE	VARIABLE	TRATAMIENTO			P
		TC	T10010	T15010	
CABRAS	IAB (%)	67.02 ± 3.2 ^a	57.53 ± 3.2 ^{ab}	50.53 ± 3.2 ^b	*
	IAP (%)	34.80 ± 1.87 ^a	28.20 ± 1.86 ^b	25.56 ± 1.89 ^b	*
	IAPT (%)	119.80 ± 6.17 ^a	94.08 ± 6.10 ^{ab}	85.70 ± 6.12 ^b	*
	IESF (%)	92.85 ± 4.22 ^a	78.34 ± 4.19 ^b	68.71 ± 4.13 ^b	*
OVEJAS	VARIABLE	TRATAMIENTO			
		TC	T15020	T20010	
	IAB (%)	28.89 ± 3.46	22.09 ± 3.57	25.16 ± 3.49	ns
	IAP (%)	12.32 ± 1.84 ^a	1.84 ± 1.89 ^b	4.14 ± 1.85 ^b	*
	IAPT (%)	38.99 ± 4.4 ^a	17.67 ± 4.5 ^b	16.88 ± 4.5 ^b	*
	IESF (%)	45.34 ± 4.00 ^a	26.49 ± 4.11 ^b	23.17 ± 4.03 ^b	*

*IAB: Incremento del espesor de las paredes del pezón; IAP: Incremento del área del pezón; IAPT: Incremento del área total del pezón; IESF: Incremento de la longitud del esfínter del pezón; ^{a,b}: letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas. P: Nivel de Significación; *: P < 0.01; ns: no significativo.*

Estos resultados fueron debidos a una mayor exposición del pezón al nivel de vacío cuando, en las últimas fases del ordeño, las pezoneras pueden permanecer conectadas a la ubre cuando el flujo es ya muy bajo o ha cesado (sobreordeño). Dado que los cambios en estado del pezón tras el ordeño pueden incrementar el riesgo de nuevas infecciones intramamarias (Hamann *et al.*, 1994), la instalación de estos dispositivos en las salas de ordeño de pequeños rumiantes tendría un papel potencialmente beneficioso en el estado sanitario de las glándulas mamarias de los animales y, por tanto, en la calidad de la leche ordeñada.

CONCLUSIONES

El empleo de ACR en el ordeño de pequeños rumiantes disminuye el efecto del ordeño mecánico sobre el estado del pezón (menor congestión y edema de sus paredes). Son necesarios posteriores estudios para conocer el efecto de este tipo de dispositivos sobre el estado sanitario de la glándula mamaria.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado en el marco del proyecto AGL2009-10695 (Ministerio de Ciencia e Innovación).

BIBLIOGRAFÍA

- Bueso-Rodenas, J., Romero, G., Arias, R., Rodríguez, A.M., Díaz, J.R. 2014a. Effect of the settings of two automatic cluster removers (ACRs) on the milking efficiency of manchega ewes. *Small Ruminants Research* 120: 224-230.
- Bueso-Rodenas, J., Romero, G., Roca, A., Díaz, J.R. 2014b. Effect of one automatic cluster remover (ACR) setting on the milking of Murciano-Granadina goats. *Livestock Science* 161:193-200.
- Díaz, J.R., Alejandro, M., Peris, C. 2013. Use of ultrasound scanning to estimate teat wall thickness in Murciano-Granadina goats. *Livestock Science* 155:114- 122.
- Hamann, J., Osteras, O. 1994. Special aspects. Teat tissue reactions to machine milking and new infection risk. *IFD Bulletin* 297: 35-41.

EFFECT OF AUTOMATIC CLUSTER REMOVERS ON TEAT- END CONDITION OF SMALL RUMINANTS

SUMMARY

The aim of this study was to assess the effect of automatic cluster removers on the teat-end condition after the milking of Manchega ewes and Murciano-Granadina goats, comparing different settings of these devices (milk flow threshold and delay time) with the milking with manual cluster removal. Two experiments were carried out, the first with 96 Murciano-Granadina goats and the second with 108 Manchega ewes. In both experiments 3 lots with similar characteristics were employed. 15 days preexperimental period took place and all the animals were milked without ACR. Then, and during the rest of the lactation, the first lot was milked without ACR and the other two lots according the settings which had resulted optimal in precedent studies. Monthly samplings of the teat condition were developed employing ultrasonography before and after the milking. It was observed that the use of ACR reduced the effects of the machine milking, causing smaller congestion in teat tissue.

Key words: automatic cluster removers, Manchega ewes, Murciano-Granadina goats, teat condition.

RELACIÓN ENTRE RECUENTO CELULAR, PRODUCCIÓN LECHERA, CONTENIDOS GRASO Y PROTEICO DE LA LECHE E INGRESOS ECONÓMICOS POR LECHE EN LA CABRA MURCIANO-GRANADINA

PLEGUEZUELOS, F.J.^{1*}; DE LA FUENTE, L.F.² y GONZALO, C.^{2**}

¹CAPRIGRAN. Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Murciano-Granadina. Cortijo Peinado, ctra. Fuente Vaqueros-Atarfe, km 1,5. 18340-Fuente Vaqueros (Granada).

²Departamento de Producción animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. 24071-León.

* javierpleguezuelos@hotmail.com; **c.gonzalo@unileon.es

RESUMEN

Con el fin de estudiar la relación entre el recuento celular (RCS) y las variables de producción y composición físico-química de la leche, así como su efecto final sobre los ingresos brutos por cabra y día, entre 2009 y 2014 fueron obtenidos un total de 758.382 controles lecheros mensuales a partir de 65.056 cabras Murciano-Granadina distribuidas en 132 rebaños lecheros españoles. Las variables medidas fueron RCS, producción de leche y porcentajes de grasa y proteína de la leche; las medias fueron $5,78 \log_{10}$ células/mL, 2,04 kg/día, 5,37% y 3,67%, respectivamente. Se evidenciaron significativos efectos del año, rebaño y fecha de control, estación, número de parto, mes de lactación, tamaño de la camada y de las covariables producción de leche y porcentajes de grasa y proteína, sobre el RCS. Las pendientes de regresión fueron negativas para la producción de leche y positivas para los contenidos de grasa y proteína, indicando así que altos RCS en la leche fueron asociados con bajas producciones lecheras y altos contenidos en grasa y proteína. Un segundo ANOVA fue construido para evaluar la evolución de las variables del control lechero a medida que el RCS se incrementa dentro de la lactación. Los porcentajes estimados de pérdidas de producción lechera para niveles de RCS de 1000×10^3 células/mL, 2000×10^3 células/mL, 3000×10^3 células/mL y $>7000 \times 10^3$ células/mL fueron 11,4%, 19,5%, 24,2% y 35,7%, respectivamente. Las ganancias

de los contenidos de grasa y proteína de la leche -a medida que el nivel de RCS aumentó- fueron también cuantificadas y relacionadas con un efecto de concentración en producciones decrecientes, así como con un incremento de la proteína soluble no coagulable en la leche. Los ingresos (en euros) por cabra y día (según el sistema actual de pago) revelaron importantes pérdidas económicas (desde 9,5% a 31,6%) para los niveles de RCS anteriormente mencionados.

Estos resultados enfatizan la necesidad de establecer programas de control y prevención de las mamitis subclínicas basados en el RCS de la leche en el caprino lechero, así como la adecuación del sistema de control lechero para este propósito.

Palabras clave: cabra, producción de leche, recuento celular, mastitis.

INTRODUCCIÓN

La importancia de las mamitis subclínicas y del RCS como factor limitante de la producción lechera está bien documentada en el ganado ovino (Gonzalo *et al.*, 1994; 2002), pero es confuso en el ganado caprino lechero, especie en la que los factores no infecciosos tienen un elevado impacto sobre el RCS que dificulta la interpretación de los resultados. Adicionalmente, no faltan autores (Koop *et al.*, 2010) que señalan que las pérdidas de leche causadas por infecciones subclínicas de la ubre son limitadas en las cabras y que cuestionan también el valor del RCS como herramienta para estimar la magnitud de tales pérdidas. Para estos autores, las negativas correlaciones entre el RCS y la producción lechera podrían ser confundidas con el efecto del estado de lactación, debido a las curvas de lactación inversas entre ambas variables (Rota *et al.*, 1993), de manera que las bajas producciones lecheras estarían asociadas a los elevados RCS de final de lactación debido a un mero efecto de concentración de las células en volúmenes decrecientes de leche a medida que progresa la lactación. Similares consideraciones podrían hacerse también para los contenidos graso y proteico de la leche, cuya relación con el RCS ha sido poco estudiada en el ganado caprino (Silanikove *et al.*, 2014).

El presente trabajo tuvo por finalidad estudiar el efecto del RCS sobre la producción y contenidos graso y proteico de la leche, pero dentro de la lactación, con el fin de evitar el efecto distorsionador del estado de lactación, y traducir dicha relación en un resultado económico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre los años 2009 y 2014, un total de 758.382 controles lecheros de RCS, producción lechera, y contenidos de grasa y proteína fueron obtenidos de 65.056 cabras Murciano-Granadina en 132 rebaños lecheros pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores CAPRIGRAN. A partir de estos datos se procedió a estudiar los factores de variación tanto del RCS como de la producción lechera y de los contenidos de grasa y proteína de la leche. Para ello se realizó un primer análisis estadístico factorial de efectos fijos –según el procedimiento GLM del SAS– en el que la variable dependiente fue el RCS y los factores estudiados fueron el año de parto, el rebaño y fecha de control, la estación anual, el número de parto, el mes de lactación, el tamaño de la camada y las covariables producción de leche y porcentajes de grasa y proteína.

Un segundo Anova fue también implementado siguiendo el mismo procedimiento del SAS para las variables dependientes producción lechera, contenido graso y contenido proteico, con el fin de estudiar la variación de tales variables dentro de la lactación y para niveles crecientes de RCS, ajustando para los mismos factores ya mencionados en el modelo anterior. Finalmente, se realizó una estimación de los ingresos (en euros) por cabra y día para los mismos niveles crecientes de RCS, según el sistema actual de precios percibidos por el ganadero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias del recuento celular, producción lechera y contenidos graso y proteico de la leche encontrados en la cabra Murciano-Granadina fueron $5,78 \log_{10}$ células/mL (media geométrica 602×10^3 células/mL), 2,04 L/día, 5,37% y 3,67%, respectivamente, para una duración promedio de lactación 224 días.

Todos los factores de variación analizados tanto para el RCS como para las variables productivas tuvieron una influencia muy significativa ($P < 0,001$), si bien únicamente nos centraremos por su interés en la relación entre el RCS con la producción lechera, el extracto quesero y los ingresos por cabra y día. La Figura 1 muestra la evolución negativa que experimentó la producción lechera dentro de cada mes de lactación a medida que aumentó el nivel de RCS. Las pérdidas medias para los niveles de RCS 1000×10^3 células/mL, 2000×10^3 células/mL, 3000×10^3 células/mL y $>7000 \times 10^3$ células/mL fueron 11,4%, 19,5%, 24,2% y 35,7%, respectivamente, con relación a las cabras del nivel más bajo de RCS y, por tanto, más productivas.

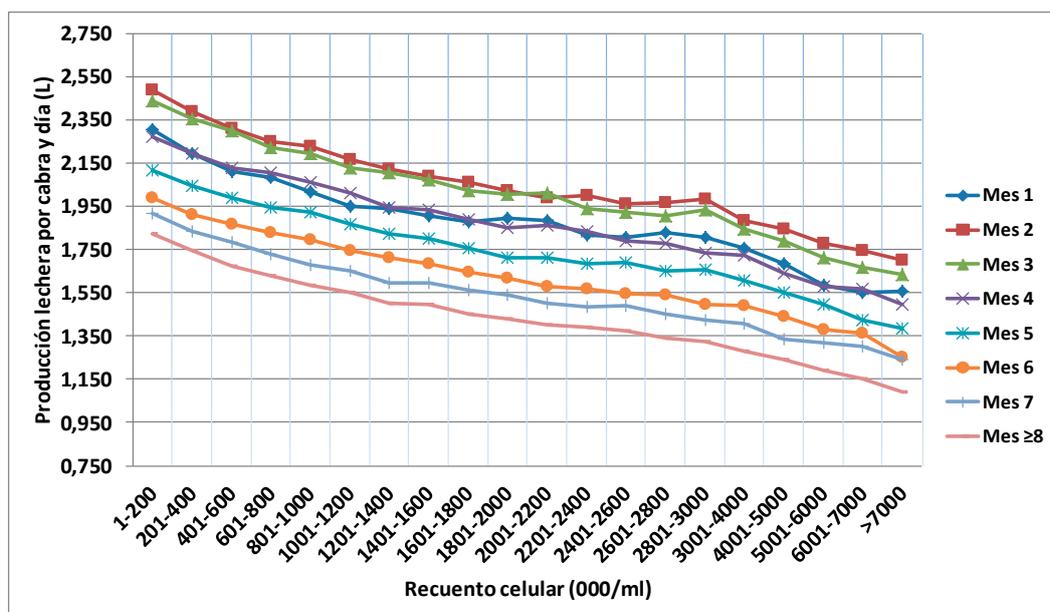


Figura 1. Evolución de la producción lechera a medida que aumenta el nivel de RCS ($\times 10^3$ células/mL) en cada mes de lactación en 65.056 cabras Murciano-Granadinas (EEM: 0.016).

El extracto quesero, evolucionó, sin embargo, de forma positiva, con incrementos de su valor a medida que aumento el nivel de RCS, siendo las ganancias porcentuales para los niveles de RCS antedichos de 2,0%, 3,9%, 5,2% y 11,2%, respectivamente. Tales ganancias estarían relacionadas con un efecto de concentración de la grasa y de la proteína en producciones decrecientes, así como con un incremento de la proteína soluble no coagulable en la leche. Finalmente, los ingresos por cabra evolucionaron de forma negativa con pérdidas diarias del 9,5%, 17,9%, 23,9%, y 31,6%, respectivamente.

En conjunto, estos resultados mostraron la adecuación del RCS como una herramienta válida para estimar la magnitud de las pérdidas de producción y económicas por leche en el caprino lechero, a la vez que enfatizan la necesidad de establecer programas de control y prevención de las mamitis subclínicas en ganado el caprino lechero.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de los ganaderos de la Asociación de Criadores de cabras Murciano-Granadinas (CAPRIGRAN), así como de Laboratorios HIPRA, S.A.

BIBLIOGRAFÍA

- Gonzalo, C., J.A. Carriedo, J.A. Baro, and F. San Primitivo. 1994. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 77: 1537-1542.
- Gonzalo, C., A. Ariznabarreta, J.A. Carriedo, and F. San Primitivo. 2002. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J. Dairy Sci.*, 85: 1460- 1467.
- Koop, G., T. van Werven, H. J. Schulling, and M. Nielen. 2010. The effect of subclinical mastitis on milk yield in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 93: 5809-5817.
- Silanikove, N., U. Merin, and G. Leitner. 2014. On effects of subclinical mastitis and stage of lactation on milk quality in goats. *Small Rumin. Res.*, 122: 76-82.

RELATIONSHIP BETWEEN SOMATIC CELL COUNT, MILK YIELD, FAT AND PROTEIN CONTENTS AND MILK INCOMES IN MURCIANO-GRANADINA GOATS

To study the relationship between somatic cell count (SCC), milk yield and contents, as well as their effect on milk incomes per goat and day, between 2009 and 2014, 758,382 monthly test-day records were obtained from 65,056 Murciano-Granadina goats in 132 Spanish dairy flocks. Variables measured were SCC, milk yield and fat and protein percentages; means were $5.78 \log_{10}$ cells/mL, 2.04 kg/day, 5.37% and 3.67%, respectively. Significant effects of year, herd test date, season, parity, month of lactation, litter size and covariables milk yield, fat and protein contents were evidenced on SCC. The regression slopes were negative for milk yield and positive for fat and protein content, thus pointing out that high SCC in milk were associated with low milk yield and high contents. A second ANOVA was built to evaluate the evolution of test-day variables as SCC level increased within lactation. The percentages estimated in losses of test day mil yield for SCC levels 1000×10^3 cells/mL, 2000×10^3 cells/mL, 3000×10^3 cells/mL and $>7000 \times 10^3$ cells/mL were 11.4%, 19.5%, 24.2% and 35.7%, respectively. Milk contents gains were also quantified. Milk incomes per goat and day (according to current payment system) revealed important economic losses (from 9.5% to 31.6%) for above-mentioned SCC levels. Results emphasize the need for the establishment of prevention and control programs of subclinical mastitis based on SCC in dairy goats, as well as the appropriateness of test day recording scheme for this purpose.

Key words: goat, milk yield, somatic cell count, mastitis.



PRODUCCIÓN
OVINA



EFFECTO DEL MANEJO (AYUNO O NO) DURANTE LA ESPERA PREVIA AL SACRIFICIO SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE BIENESTAR ANIMAL EN CORDEROS DE RAZA MERINA

CÓZAR, A.^{1,2}; RODRIGUEZ, A.I.³; GARIJO, P.^{1,2}; CALVO, L³ y VERGARA, H.^{1,2*}

¹ Universidad de Castilla-La Mancha. Dpto. de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Montes, 02071 Albacete, España.

² Instituto de Desarrollo Regional. Sección de Calidad Alimentaria, Albacete.

³ INCARLOPSA, Tarancón, Cuenca, España.

* Herminia.Vergara@uclm.es

RESUMEN

Este trabajo valoró las posibles diferencias existentes en los indicadores fisiológicos de bienestar animal entre corderos merinos mantenidos con diferente manejo (ayuno o no ayuno) durante el periodo de espera previo al sacrificio, así como las diferencias de cada grupo con los niveles en condiciones basales (obtenidos en granja). La privación de alimento provocó un incremento significativo ($P < 0,05$) respecto a los niveles basales del valor de adrenalina, proteínas totales y lactato, mientras que causó una disminución significativa ($P < 0,05$) de la glucosa. La concentración de noradrenalina más baja fue hallada después de la espera en los animales que no ayunaron. La disposición o no de pienso durante la espera causó diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en los niveles de hematíes, hematocrito, noradrenalina, glucosa, proteínas totales, LDH y lactato.

Palabras clave: Bienestar animal, ayuno, espera, cordero.

INTRODUCCIÓN

La espera de los animales en el matadero antes del sacrificio, es una práctica que ayuda al ganado a recuperarse tras el estrés sufrido durante el transporte (Kannan *et al.*, 2000). El ayuno durante este periodo es importante para reducir el contenido gastrointestinal y con ello el riesgo

de contaminación de la canal (Gregory & Grandin, 1998). Sin embargo, la administración de comida durante la espera podría reducir el estrés en los animales (Gonyou, 2012).

Los cambios en la composición sanguínea han sido utilizados para evaluar el estrés de los animales (Broom, 2000) y por ello el bienestar animal. El objetivo de este trabajo fue valorar las posibles diferencias existentes en los parámetros fisiológicos sanguíneos entre corderos mantenidos con diferente manejo (ayuno o no ayuno) durante el periodo previo al sacrificio y conocer la variación sufrida respecto a los niveles basales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 48 corderos machos de raza Merina procedentes de cebaderos situados en Cabeza de Buey (Badajoz, España). Los animales fueron destetados a los 45 días de edad y alimentados con un pienso comercial *ad libitum*. Cuando alcanzaron el peso y edad de sacrificio ($28,03 \pm 0,05\text{Kg}$; 90 días) fueron transportados (densidad al transporte de $0,20\text{m}^2/\text{animal}$) hasta Tarancón (Cuenca, España) para ser sacrificados en el matadero propiedad de INCARLOPSA. Todas las prácticas de manejo se realizaron de acuerdo la Directiva Comunitaria 2010/63/EU con respecto a la protección de los animales usados en investigación con propósitos científicos. A su llegada al matadero los corderos permanecieron en espera (18 horas) hasta el sacrificio, separados al azar en dos grupos [$n=12/\text{lote}/\text{réplica}$ (mayo vs junio)]. Un grupo recibió alimento durante la espera (el mismo que en la granja), mientras que el otro se mantuvo en ayuno. Todos dispusieron de agua durante la espera.

Para evaluar el efecto del manejo (ayuno o no) previo al sacrificio se determinaron los niveles hematológicos, hormonales y bioquímicos sanguíneos. Para ello se realizó una primera extracción en condiciones basales (en granja) y otra después de la espera en matadero. La extracción de sangre (en vena yugular) se realizó por personal cualificado. La sangre se recogió en tubos de 1ml con EDTA para el análisis de parámetros hematológicos y catecolaminas y en tubos de 4ml sin aditivos para determinar cortisol y valores bioquímicos. Tras la extracción, las muestras se mantuvieron a 2°C en una nevera portátil hasta la llegada al laboratorio de análisis clínicos (MICROLAB S.L, Albacete) donde se analizaron los siguientes indicadores fisiológicos:

- Hematológicos: Se determinaron hematíes ($10^6/\text{mm}^3$), hemoglobina (g/L), hematocrito (%) y leucocitos ($10^3/\text{mm}^3$) mediante un contador de células ABX Micros 60 (Horiba ABX, Francia).

- Hormonales: Se valoró la concentración de cortisol por medio de un análisis enzimo-inmuno-ensayo competitivo Radim Brio (EIA, RADIM, Pomezia, Italia). La determinación de adrenalina y noradrenalina se realizó mediante un enzimo-inmuno-ensayo competitivo kit Cat Combi [(Adrenalina/Noradrenalina), ELISA, EIA-4309, DRG Instruments GmbH, Alemania]. Para ambos ensayos se utilizó un lector ELISA BRIO (Basic Radim Immunoassay Operator, Radim spa, Italia).
- Bioquímicos: Se analizaron glucosa (mmol/L), proteínas totales (g/L), creatinina ($\mu\text{mol/L}$), LDH (U/L), CK (U/L) y lactato (g/L) mediante un autoanalizador Synchron CX4 delta (Beckman Coulter, Inc.).

Un test Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad de los datos fue realizado previamente a evaluar las diferencias existentes entre los valores sanguíneos de los grupos de espera (ayuno *vs.* no ayuno) así como con los niveles basales obtenidos en granja, lo cual se determinó mediante un ANOVA con medidas repetidas con el paquete estadístico SPSS v19.0 (IBM Corp., 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros sanguíneos analizados (hematológicos, hormonales y bioquímicos) tanto en condiciones basales (en granja) como en post-espera previa al sacrificio en cada grupo de manejo (ayuno o no ayuno durante la espera), así como las diferencias existentes entre ambos momentos de extracción.

No hubo incrementos significativos de los parámetros hematológicos durante la espera respecto a los niveles basales. Los valores de los hematíes y hematocrito después de la espera fueron superiores ($P < 0,05$) en los animales que ayunaron durante este periodo. Estos resultados contrastan con los de Liste *et al.* (2011) que no hallaron variaciones en los parámetros hematológicos de corderos asociados con la espera.

El ayuno causó con respecto a los valores en granja un incremento ($P < 0,05$) de la concentración de adrenalina. En cambio la de la noradrenalina disminuyó ($P < 0,05$) en el grupo que recibió alimento, siendo significativamente ($P < 0,05$) menor que en los corderos que ayunaron. Altos niveles de catecolaminas han sido asociados con ayunos inducidos, principalmente de noradrenalina (De Boer *et al.*, 1989). Además, las catecolaminas producen una contracción del bazo en situaciones de estrés, produciéndose un aumento del nivel de hematíes en sangre (Marco & Lavín, 1999) lo que podría explicar los valores algo más altos de estas células en el grupo que ayunó durante la espera.

En general los parámetros bioquímicos fueron más altos tras la espera con respecto a los niveles basales cuando los corderos dispusieron de alimento. En cambio, los animales que ayunaron tuvieron una concentración menor de glucosa ($P<0,05$) y mayor ($P<0,05$) de proteínas totales y lactato que los hallados en granja. De acuerdo con Bergman (1975) una baja ingesta de alimento produce un descenso en el metabolismo de la glucosa debido a una disminución de la producción de propionato (mayor precursor de la gluconeogénesis) en el rumen, lo que explicaría los resultados obtenidos en este parámetro. Por otra parte, los bajos niveles de glucosa encontrados en el grupo que ayunó podrían ser útiles como indicadores de estrés de acuerdo con Kannan *et al.* (2000), mientras que de acuerdo con los datos podría decirse que hubo una recuperación durante la espera en los corderos con pienso a disposición. Aunque la concentración de proteínas totales ha resultado de poco valor como indicador de estrés, algunos estudios han hallado superiores niveles en animales sometidos a condiciones estresantes (Peinado *et al.*, 1993). Gupta *et al.* (1999) asoció una disminución de LHD con una falta de alimentación en equinos, lo cual contrasta con nuestros resultados, obviamente esto podría ser debido a la diferencia fisiológica de estas dos especies animales.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros sanguíneos en condiciones basales (en granja) y post- espera (en matadero) previa al sacrificio según el manejo aplicado.

Parámetros sanguíneos	AYUNO durante la espera		NO AYUNO durante la espera	
	Niveles Basales	Post-espera	Niveles Basales	Post-espera
<i>VARIABLES HEMATOLOGICAS</i>				
Hematíes ($10^6/\text{mm}^3$)	10,41±0,23	11,02±0,25 ^y	8,69±0,71	9,73±0,33 ^x
Hemoglobina (g/L)	0,72±0,02	0,76±0,02	0,71±0,02	0,72±0,02
Hematocrito (%)	34,02±0,88	36,34±0,85 ^y	27,93±2,43	31,59±1,29 ^x
Leucocitos ($10^3/\text{mm}^3$)	105,82±2,89	108,63±2,24	91,77±3,78	100,57±4,41
<i>VARIABLES HORMONALES</i>				
Cortisol (nmol/L)	54,87±14,16	93,71±10,64	110,57±17,25	110,68±12,91
Adrenalina (nmol/L)	549,32±80,94 ^a	763,45±88,32 ^b	483,15±44,75	605,61±46,11
Noradrenalina (nmol/L)	2570,16±370,03	3171,40±333,53 ^y	2224,27±282,04 ^d	831,39±155,65 ^{c,x}
<i>VARIABLES BIOQUIMICAS</i>				
Glucosa (mmol/L)	5,05±0,21 ^b	3,79±0,18 ^{a,x}	3,63±0,22 ^c	4,84±0,21 ^{d,y}
Proteínas totales (g/L)	59,58±4,11 ^a	72,33±4,68 ^{b,y}	50,15±1,85 ^c	55,96±1,47 ^{d,x}
Creatinina ($\mu\text{mol/L}$)	75,66±8,17	80,81±5,71	58,26±3,50 ^c	80,77±3,63 ^d
LDH (U/L)	379,50±30,46	454,67±34,32 ^y	242,55±21,80	321,82±43,95 ^x
CK (U/L)	164,00±51,20	181,18±54,12	94,55±8,54	184,70±35,87
Lactato (g/L)	0,24±0,03 ^a	0,27±0,03 ^{b,y}	0,26±0,03	0,19±0,02 ^x

^{a,b}: Indica diferencias significativas ($P<0,05$) entre los momentos de extracción (granja/post-espera) en el grupo de corderos que ayuna durante la espera; ^{c,d}: Indica diferencias significativas ($P<0,05$) entre los momentos de extracción (granja/post-espera) en el grupo de corderos que no ayuna durante la espera; ^y: Indica diferencias significativas ($P<0,05$) después de la espera debido al diferente manejo durante la espera (ayuno/no ayuno)

CONCLUSIONES

Desde un punto de vista de bienestar animal la disposición de alimento durante la espera en matadero previa al sacrificio podría ser más apropiada que mantener a los corderos en ayuno. No obstante el manejo aplicado (ayuno o no) durante este periodo podría depender de factores económicos, la higiene de la canal y la calidad de la carne.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer la ayuda prestada a INCARLOPSA, OVISO y COVAP y a D.A. L. Mesas y Dña. B. Agudo. Este experimento forma parte de un proyecto financiado con fondos CDTI y FEDER (IDI-20120687).

BIBLIOGRAFÍA

- Bergman, E.N. (1975). Production and utilization of metabolites by the alimentary tract as measured in portal and hepatic blood. En I. W. McDonald, & A. I. Warner (Edits.), *Digestion and Metabolism in the Ruminant* (págs. 292-305). Armidale, Australia: The University of New England Publishing Unit.
- Broom, D.M. (2000). Welfare assessment and welfare problem areas during handling and transport. En T. Grandin (Ed.), *Livestock handling and transport* (págs. 43-62). Wallingford, UK: CABI Publishing.
- De Boer, S.F., Koopmans, S.J., Slangen, J.L., & Van Der Gugten, J. (1989). Effects of fasting on plasma catecholamine, corticosterone and glucose concentrations under basal and stress conditions in individual rats. *Physiology & Behavior*, 45, 989-994.
- Directiva 2010/63/UE, 20110, del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos.
- Gonyou, H.W. (2012). *The Welfare of Sheep: Review of Recent Literature*. Recuperado el 21 de 01 de 2015, de <http://www.prairieswine.com/wp-content/uploads/2012/02/sheep.pdf>
- Gregory, N., & Grandin, T. (1998). *Animal welfare and meat science*. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Gupta, A.K., Mamta, Y.P., & Yadav, M.P. (1999). Effect of feed deprivation on biochemical indices in equids. *Journal of Equine Science*, 2, 33-38.
- IBM Corp. (2010). *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Guide user*. Armonk, New York, USA: IBM Corp.
- Kannan, G., Terrill, T.H., Kouakou, B., Gazal, O., Gelaye, S., Amoah, E., & Samaké, S. (2000). Transportation of goats: Effects on physiological stress responses and live weight loss. *Journal of Animal Science*, 78, 1450-1457.
- Liste, G., Miranda-De La Loma, G.C., Campo, M.M., Villarroel, M., Muela, E. & María, G.A., 2011. Effect of lairage on lamb welfare and meat quality. *Animal Production Science* 51, 952-958.
- Marco, L., & Lavín, S. (1999). Effect of the method of capture on the haematology and blood chemistry of red deer (*Cervus elaphus*). *Research in Veterinary Science*, 66, 81-84.

Peinado, V.I., Fernández-Arias, A., Viscor, G. & Palomeque, J. (1993). Haematology of Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) restrained by physical or chemical means. *Veterinary Record*, 132, 580-583.

EFFECT OF HANDLING (FASTING OR FEEDING) DURING LAIRAGE BEFORE SLAUGHTER ON ANIMAL WELFARE PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN MERINO LAMBS

SUMMARY

This work examined the differences between merino lambs with different handling (fasting or feeding) during lairage before slaughter on animal welfare physiological parameters and the possible modifications of the basal conditions. Handling during lairage caused statistical differences ($P < 0.05$) on the levels of red blood cells, hematocrit noradrenaline, glucose, total protein, LDH and lactate. Lambs with food during lairage had the lowest noradrenaline value. Feed deprivation caused a significant ($P < 0.05$) increase compared to basal levels of the values of adrenaline, total protein and lactate. However, glucose level decreased ($P < 0.05$) with feed deprivation.

Key words: Animal welfare, fasting, lairage, lamb.

TABERNERO DE PAZ, M.J.*; POSADO, R.; GARCÍA-GARCÍA, J.J.;
RODRÍGUEZ, L.A. y BODAS, R.

Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y
Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y
León.

* tabrisma@itacyl.es

RESUMEN

Se ha estudiado la correlación entre el agua caliente producida en 18 explotaciones de ganado ovino lechero de Castilla y León, el equipamiento para producirla (termos), las necesidades estimadas de agua caliente y su consumo energético asociado. La temperatura media del agua caliente se encuentra en el rango óptimo, si bien se estima que la mayoría de las explotaciones no producirían agua caliente en cantidad suficiente. Las características de los termos están correlacionadas positivamente con la temperatura del agua, el tamaño de la explotación y la producción de leche por oveja. Las necesidades estimadas de agua caliente y de energía asociada a su producción por cada litro de leche producido disminuyen a medida que aumenta el tamaño del rebaño y, sobre todo, la leche producida por oveja.

Palabras clave: eficiencia energética, temperatura, termo, limpieza.

INTRODUCCIÓN

La realización de adecuados procedimientos de limpieza de los equipos que están en contacto directo con la leche es fundamental para garantizar una adecuada calidad bacteriológica de la misma.

Para mantener al mínimo el número de bacterias en leche es necesario establecer una rutina de higiene adecuada, de manera que equipos de ordeño y refrigeración se limpien siempre después de su uso (tras su vaciado en el caso del tanque) y siguiendo el mismo protocolo: aclarado inicial con agua tibia o fría, seguido de limpieza con agua caliente (60-70° C en el caso del circuito de ordeño; 45-50°C para el tanque) con soluciones higienizantes apropiadas, y aclarado final con agua fría (Arana *et al.*, 2002). Se estima que la cantidad de agua caliente necesaria para limpiar el equipo de ordeño tras su uso es de 8-10 litros por punto de ordeño. En el caso del tanque refrigerador, se recomienda emplear un volumen de agua caliente igual o superior al 5% de su volumen nominal. (Arana *et al.*, 2002). Generalmente, las explotaciones de ovino lechero presentan equipos eléctricos (termos y/o acumuladores) para obtención de agua caliente. Un buen dimensionamiento del termo eléctrico es fundamental para garantizar que la explotación dispone en todo momento de suficiente de agua caliente para la limpieza de los equipos. El tiempo de calentamiento de los termos, es decir, el tiempo que tarda en recuperar el agua caliente tras su uso (subir la temperatura 50-60° C según tipos) varía en función del volumen y la potencia de estos termos y determinará el consumo de energía que implica el proceso de limpieza de los equipos de ordeño y refrigeración.

El objetivo de este estudio conocer el consumo de agua caliente y gasto eléctrico asociados al proceso de calentamiento del agua en aquellas explotaciones de ovino lechero que están utilizando termo eléctrico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado visitas a 18 explotaciones de ovino lechero situadas en las provincias de Burgos, León, Palencia y Zamora. Se recogieron datos en las explotaciones para conocer las características del consumo de energía asociado al calentamiento de agua. Aunque este aspecto se encuadró dentro de un sistema de auditorías más amplio, para los objetivos del presente trabajo se recabaron datos de características de los termos utilizados para calentar el agua (potencia, capacidad – volumen– y tiempo de recuperación) y las características de la sala de ordeño (número de puntos). Asimismo se tomó la temperatura del agua caliente a la salida del grifo después de 2 minutos tras la apertura.

Las necesidades de agua caliente se han estimado en 8 L por puesto de ordeño y un 5% de la capacidad nominal del tanque (Arana *et al.*, 2002); las necesidades de energía se han estimado teniendo en cuenta la capacidad, la potencia del termo y su tiempo de recuperación (tiempo necesario para elevar la temperatura del agua desde la temperatura

ambiente hasta la temperatura de trabajo: 60-70 ó 70-80 °C en el caso de los termos domésticos o industriales, respectivamente).

Se han calculado los índices de utilización de la energía por oveja productora y por unidad de leche producida (Edens *et al.*, 2003). Se calcularon los valores medios para cada parámetro estudiado y se realizó un análisis de correlación entre todos los parámetros, aunque únicamente se muestran las correlaciones estadísticamente significativas. Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS 16.0 para Windows (IBM Corp., Nueva York, EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores que se presentan en la Tabla 1 son una media de los valores medios observados en las explotaciones auditadas. El rango de los rebaños encuestados es amplio, ya que el número medio de ovejas por rebaño oscila entre las 174 y las 1173 ovejas. Por consiguiente también existe una elevada variabilidad en la producción de leche y la productividad (litros por oveja), así como en el tamaño de la sala de ordeño y las características de los termos utilizados. No obstante, la temperatura del agua caliente se encuentra dentro del rango considerado como apto para la limpieza de los equipos (Arana *et al.*, 2002; Bava *et al.*, 2011). Sin embargo, únicamente un 44% de las explotaciones auditadas tendrían capacidad para producir el volumen suficiente de agua a la temperatura adecuada para limpiar el circuito de ordeño; este porcentaje se reduciría al 13% si también se tuvieran en cuenta las necesidades de agua caliente para limpiar el tanque (lo que suele suceder uno de cada 2 días en la mayoría de las explotaciones), si ambas limpiezas se llevaran a cabo de forma simultánea o consecutiva.

En la Tabla 2 se muestran las correlaciones significativas entre los parámetros estudiados. Las necesidades calculadas de agua caliente están correlacionadas positivamente con el dimensionado del termo (potencia y capacidad), además de con el tiempo de recuperación de éste (a mayor volumen y potencia, mayores tiempos de recuperación). De forma análoga, las necesidades de energía para calentar el agua son directamente proporcionales a los parámetros anteriormente mencionados y a las necesidades de agua caliente. La temperatura del agua está correlacionada con la capacidad y la potencia de los termos. En este sentido, los termos de tipo industrial (≥ 200 L de capacidad) tienen potencias y tiempos de recuperación superiores; además, elevan la temperatura del agua, de media, 10 °C más que los de tipo doméstico.

Dado que las explotaciones más grandes (por número de ovejas) tienen mayores producciones de leche, son éstas las que cuentan con los termos para calentamiento de agua mayores, ya que los volúmenes de agua caliente necesarios son también más elevados. Asimismo, son estas explotaciones las que generalmente tienen la producción de leche por oveja más altas. Estas circunstancias contribuyen a explicar las correlaciones positivas entre todos estos parámetros.

Las necesidades de energía para calentar el agua, expresadas por litro de leche producido, son menores a medida que se incrementa la producción de leche, el número de ovejas y, sobre todo, la leche producida por oveja y año. Es decir, a medida que se incrementa el tamaño de la explotación y la producción de leche, también lo hace el consumo energético total para producción de agua caliente, pero aumenta la eficiencia: es necesaria una menor cantidad de agua caliente (y de la consiguiente energía) por cada litro de leche producido.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros estudiados.

	Media	Mínimo	Máximo	Desv. est.	N
Número medio de ovejas	566	174	1173	292,5	18
Producción media de leche					
L/año	177 813	14 987	435 975	137 001	18
L/día	487	41	1194	375,3	18
L/oveja y día	1,55	0,48	3,21	0,801	18
L/oveja y año	275	86	464	102,8	18
Puntos de ordeño (n)	20,7	4,0	48,0	10,88	17
Volumen del termo (L)	148	30	200	64,7	13
Potencia del termo (kW)	2,42	1,00	3,00	0,736	13
Tiempo de recuperación del termo (h)	3,82	1,2	4,8	1,188	13
Necesidades estimadas de agua caliente (L/día)					
Limpieza circuito (8 L/punto de ordeño)	165	32	384	87,0	17
Limpieza circuito (8 L/punto de ordeño) + tanques	257	53	534	136,7	17
Por cada litro de leche producido	0,631	0,340	1,680	0,3356	17
Por cada oveja en ordeño	0,434	0,280	0,670	0,1092	17
Necesidades de energía (kWh/día)					
Limpieza circuito (8 L/punto de ordeño)	9,87	1,90	26,50	6,104	13
Limpieza circuito (8 L/punto de ordeño) + tanques	14,0	0,0	36,8	9,98	14
Por cada litro de leche producido (Wh/L)	41,2	23,6	80,5	17,53	13
Por cada oveja en ordeño (Wh/oveja)	27,2	17,4	42,4	7,74	13
Temperatura media del agua (°C)	64,6	52,0	79,0	7,64	17

Tabla 2. Coeficientes de correlación para las correlaciones significativas entre los parámetros estudiados.

	Volumen del termo	Potencia del termo	Tiempo de recuperación termo	Agua caliente necesaria	Energía necesaria	Temperatura del agua	Leche producida	Nº de ovejas	Leche producida por oveja
Necesidades agua caliente	0.66*	0.51 ^t	0.63*						
Necesidades de energía	0.69**	0.58*	0.63*	0.92**					
Temperatura agua	0.75**	0.58*	0.68*						
Producción leche	0.61*	0.57*	0.53 ^t	0.91**	0.88**				
Ovejas	0.61*	0.51 ^t	0.60*	0.91**	0.86**		0.97**		
Leche/oveja	0.62*	0.67*		0.77**	0.73**		0.87**	0.78**	
Necesidades energía por litro leche							-0.56*	-0.49 ^t	-0.73**
Necesidades agua por litro leche		-0.57*				-0.46 ^t	-0.57*	-0.52*	-0.75**

Nivel de significación: ^t = $P < 0,10$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$.

Se observa una correlación positiva (Tabla 2) entre el volumen del termo, su potencia y la temperatura del agua; asimismo hay una correlación positiva entre el número de puntos de ordeño en las salas y la potencia y el volumen de los termos instalados. En este sentido, las explotaciones más grandes, con mayor número de puntos de ordeño en sala son las que tienen unas mayores necesidades de agua caliente para la limpieza, tanto del tanque de enfriamiento como del circuito de ordeño. Los resultados muestran que el dimensionado de las salas de ordeño y de los equipos anexos a ellas se hace de manera, si no adecuada al 100%, proporcional a las necesidades de la explotación.

CONCLUSIONES

Las explotaciones de ganado ovino lechero auditadas tienen una capacidad de producir agua caliente proporcional al tamaño de la explotación. No obstante, conforme a las recomendaciones habituales, no todas las explotaciones podrían producir agua caliente a la temperatura adecuada, aspecto que debe ser tenido en cuenta al revisar la higiene de los equipos. Las necesidades y la eficiencia de utilización del agua caliente aumentan a medida que lo hace el tamaño del rebaño y, sobre todo, la productividad por animal (litros producidos por oveja).

AGRADECIMIENTOS

A las Cooperativas Quesos Cerrato y Nutecal por facilitar el contacto con sus ganaderos y hacer posible la toma de muestras y de datos en las explotaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Arana, M.J., Ocaña, E., Terradillos, A., 2002. Manual de instalaciones para explotaciones lecheras. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 246 pp.
- Bava, L., Zucali, M., Sandrucci, A., Brasca, M., Vanoni, L., Zanini, L., Tamburini, A., 2011. Effect of cleaning procedure and hygienic condition of milking equipment on bacterial count of bulk tank milk. *J. Dairy Res.* 78, 211-219.
- Edens, W.C., Pordesimo, L.O., Wilhelm, L.R., Burns, R.T., 2003. Energy use analysis of major milking center components at a dairy experiment station. *Appl. Eng. Agric.*, 19(6): 711-716.
- Reinemann, D.J., Wolters, G.M.V.H., Billon, P., Lind, O., Rasmussen, M.D., 2003. Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. *Bull. Int. Dairy Federation* 381: 3-18.

WATER HEATING IN DAIRY SHEEP FARMS: MATCHING THE RECOMMENDATIONS

SUMMARY

Eighteen dairy sheep farms from Castille and Leon were audited to search for the correlations between hot water production, water heaters characteristics and the estimated hot water and heating power needs. Average hot water temperature was within the suitable range, although most of the farms wouldn't be able to produce hot water enough to meet their needs. Water heaters characteristics are proportional (positively correlated) to herd size, water temperature and milk production per ewe. Estimated hot water and heating power needs per litre of milk produced diminish (negative correlation) as herd size and milk production per ewe increase.

Key words: Energy efficiency, temperature, water heating, cleaning.

MANDALUNIZ, N.^{1*}; MINGO, A.¹; BATALLA, I.¹; SÁEZ, J.²;
DEL HIERRO, O.¹ y RUIZ, R.¹

^aNEIKER, Apartado 46, 01080 Vitoria-Gasteiz.

¹INTIA- Avenida Serapio Huici 22, 31610 Villava-Navarra.

* nmandaluniz@neiker.net

RESUMEN

El sector de ovino lechero del País Vasco y Navarra se ha basado tradicionalmente en la utilización de la raza Latxa mediante sistemas de producción ligados al uso de los recursos forrajeros locales y al pastoreo. Sin embargo, durante las últimas décadas hemos asistido a una evolución hacia la intensificación del sistema productivo y reducción de la actividad de pastoreo, con las consiguientes implicaciones que ello lleva a nivel del ecosistema. Determinar la huella de carbono (HC) de estos sistemas resulta necesario para mejorar su eficiencia así como para reducir las emisiones asociadas a la ganadería. De acuerdo a los resultados del presente trabajo la intensificación reduce la HC. Pero además, la incorporación de prácticas regenerativas reduce un 10% la HC por lo que puede tratarse de una alternativa de mitigación interesante para los rebaños, sin tener que intensificar el sistema.

Palabras clave: Huella de carbono, ovino lechero, sistema de producción.

INTRODUCCIÓN

La publicación del informe de la FAO (Steinfeld *et al.*, 2006) acerca del impacto ambiental de la ganadería, han generado controversia y debate sobre las emisiones de efecto invernadero (GEI), así como sobre las estrategias de mitigación. Son numerosas las opiniones que propugnan la intensificación de los sistemas de producción para mitigar los impactos ambientales, si bien a menudo dichas evaluaciones son

parciales ya que no consideran ni las emisiones por unidad de superficie, o la competencia de uso de recursos potencialmente destinados a la alimentación humana (Gill *et al.*, 2010), etc.

El sector de ovino lechero del País Vasco y Navarra se ha basado tradicionalmente en la utilización de la raza Latxa mediante sistemas de producción ligados a la explotación de los recursos forrajeros locales, y en mayor o menor medida, al pastoreo (Ruiz *et al.*, 2009). Sin embargo, durante las últimas décadas hemos asistido a una evolución hacia la intensificación, tanto de la reproducción como de la alimentación, con una mayor dependencia externa de los sistemas de alimentación, con las consiguientes implicaciones que ello lleva a nivel del ecosistema.

La estimación de las emisiones de GEI así como de la huella de carbono (HC) de estos sistemas supone un primer paso para diseñar estrategias de mitigación y en definitiva, contribuir a su sostenibilidad. Conscientes de la capacidad de fijación de carbono que tienen los pastos permanentes (Teague *et al.*, 2011) consideramos necesario estimar la capacidad de fijación de cada sistema, para así poder compensar y/o reducir la huella de carbono de los productos ganaderos. El objetivo del presente trabajo fue realizar el cálculo de la HC asociado a la producción lechera del sector ovino de raza latxa, tomando como casos de estudio 5 sistemas de ovino lechero que participan tanto en los proyectos LIFE REGEN FARMING (LIFE12 ENV/ES/23) y OVIPOINT (proyecto INIA).

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado con datos recogidos mensualmente en las explotaciones, entre 2013-14. En la Tabla 1 se detallan las características de los 5 casos de estudio:

Tabla 1. Características generales de los 5 rebaños de ovino lechero monitorizados para el cálculo de la huella de carbono.

Sistema		S1	S2	S3	S4	S5
Características		Intensivo	Alternativo	Ecológico	Alternativo	REGEN*
Alimentación	Concentrado	Unifeed	Sin soja	Ecológico	Sin soja	Sin soja
	Forrajés		No compra	No compra	Si compra	Si compra
	Pastoreo	Valle	Valle/monte	Valle/monte	Valle	Valle
Nº ovejas (total rebaño)		510	464	360	200	200
SAU (ha)		40	21	43	10	10
Tiempo pastoreo (%)		60	80	70	70	75
Salida comercial		Queso	Queso	Queso	Leche	Leche

*: Manejo REGEN: abandono del uso de fertilizantes inorgánicos, aumento de la producción herbácea y del tiempo de pastoreo y reducción de uso de concentrado (más detalles en Mandaluniz *et al.*, 2015).

Para el cálculo de la HC se ha seguido la metodología establecida por Batalla *et al.* (2014); la HC de cada explotación es el resultado del sumatorio del conjunto de la fuentes de emisión incluidas, expresándose el resultado en kg CO₂eq/unidad funcional. La unidad funcional tomada para el cálculo de la HC es la de un kg de leche corregida por grasa y proteína (FPCM), según la fórmula establecida por Pulina *et al.* (2004): $Lc (kg) = leche (kg) \times (0,25 + 0,085 \times \% \text{grasa} + 0,035 \times \% \text{proteína})$.

Para la conversión a CO₂ equivalente (CO₂e), se utilizan los potenciales de calentamiento global (PCG) de 1, 25 y 298, para CO₂, CH₄ y N₂O, respectivamente (IPCC, 2007). No se han tenido en cuenta las emisiones debidas a: N mineralizado en suelo, gestión de los residuos agrícolas, tratamientos veterinarios, tratamientos fitosanitarios y productos de limpieza, así como las debidas a la fabricación de maquinaria e infraestructuras.

En el estudio se ha empleado el enfoque o alcance denominado “de la cuna a la puerta (*cradle-to-gate*)”, también denominado como valoración empresa-empresa. Las metodologías de cálculo se ha basado en: (i) para la fermentación entérica (CH₄) y emisiones de CH₄ y de N₂O por la gestión del estiércol: directrices establecidas en el IPCC, 2006 y en el Inventario Nacional de Emisiones de Contaminantes a la Atmósfera, Serie 1990-2012); (ii) para las emisiones de CO₂ procedentes de la fabricación y transporte de concentrados y forrajes: la herramienta Carbon Calculator, Bochu *et al.* (2013); y (iii) las emisiones asociadas al consumo energético se calculan mediante los factores establecidos por la CNMC, 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las emisiones ganaderas de las explotaciones de estudio se encuentran dentro del rango establecido por Batalla *et al.* (2015). En general se observa que las emisiones por unidad funcional se reducen conforme aumenta el nivel de intensificación de los sistemas (Figura 1). Así, se observa que las emisiones correspondientes a los sistemas de producción de ovino lechero que no utilizan soja y el ecológico, representan cerca del 20% más que las correspondientes a un sistema de Latxa en intensivo (S1). En gran parte estas diferencias se relacionan con la productividad de las ovejas y el efecto dilución debido a la menor producción lechera por oveja presente. No obstante, se observa que la incorporación de prácticas regenerativas en el manejo de ovino lechero de raza Latxa (S4 frente a S5) permitiría reducir las emisiones en torno a un 10% sin afectar a la producción. En particular, las emisiones asociadas a la fertilización se redujeron en un 34% y un 20% por la reducción del uso

de piensos concentrados. Estos resultados coinciden con los casos de estudio detallados por Genber *et al.* (2013), donde se analizan estrategias de mitigación no intensificadoras, como la mejora de la calidad de los pastos y forrajes, manejo del pastoreo para retención de carbono en suelo, etc.

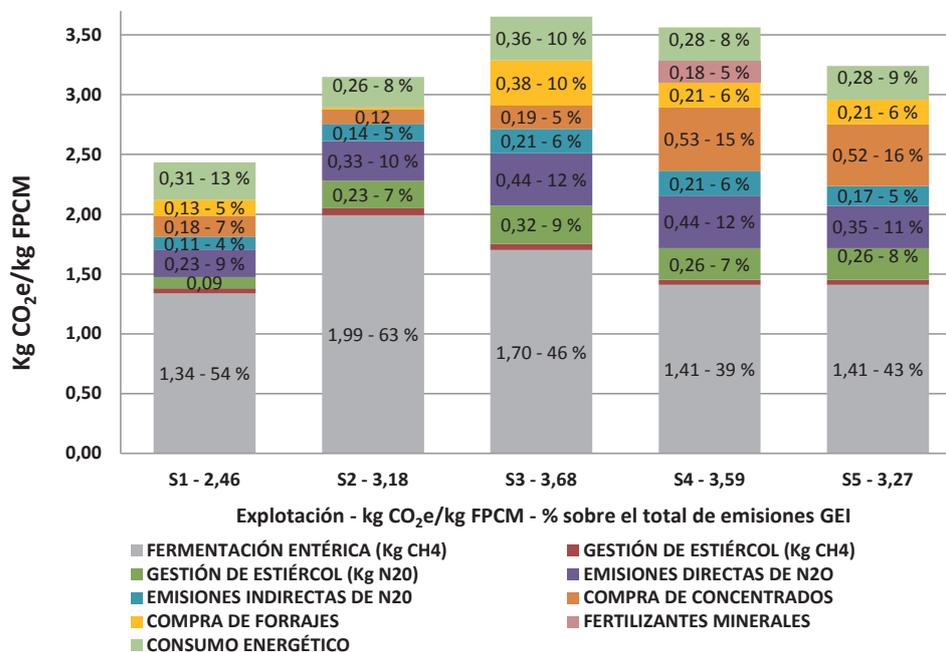


Figura 1. Desglose de la Huella de Carbono (kg CO₂e/kg FPCM) por fuentes de emisión y por porcentaje respecto de las emisiones GEI totales de los 5 casos de estudio analizados (S1-S5).

No obstante, además de la producción de leche estos sistemas tienen otros servicios añadidos (conservación de la biodiversidad, fijación de carbono, contribución a la viabilidad de zonas desfavorecidas y mantenimiento de acervos culturales, etc.), que no se tienen en cuenta en el cálculo de la HC. De hecho, cuando se considera la multifuncionalidad de estos sistemas el cálculo se invierte siendo la HC superior en los sistemas intensivos frente a los que se basan en pastoreo (Ripoll-Bosch *et al.*, 2013). En este sentido la HC presenta limitaciones ya que no tiene en cuenta las externalidades positivas que generan los sistemas ligados al territorio. En esta misma línea, conscientes de la capacidad de fijación de carbono que tienen los pastos permanentes de estos sistemas, Batalla *et al.* (2015) encuentran que las explotaciones de ovino lechero con pastoreo tienen un potencial de fijar carbono del 25%.

Finalmente, cuando nos fijamos a detalle en el reparto de las emisiones, se observa que en todos los casos, la mayor parte de las emisiones corresponden a las fermentaciones entéricas, oscilando entre el 40-60% del total; en orden de importancia le siguen los concentrados que representan entre 5-16% y la gestión de los forrajes (entre 1-10%). El

impacto del consumo de la electricidad es evidentemente superior en las explotaciones que elaboran queso (8% de las emisiones totales frente a 4-5% en los rebaños lecheros) (Figura 1).

CONCLUSIONES

Las emisiones por litro de leche se reducen conforme aumenta el nivel de intensificación y de productividad de los sistemas de ovino lechero. No obstante, se observa que la incorporación de prácticas regenerativas permitiría reducir las emisiones en torno a un 10% sin afectar a la producción. Por otro lado, el trabajo no analiza el potencial de fijación de carbono que tienen estos sistemas basados en pastoreo, parámetro que se tendría que considerar a la hora de diseñar estrategias para contribuir a la sostenibilidad de estos sistemas.

AGRADECIMIENTOS

El estudio ha sido financiado por LIFE REGEN FARMING (LIFE12 ENV/ES/23), OVIPOINT (proyecto INIA) y el Gobierno Vasco. Los autores agradecen a los pastores que han participado en el estudio por su colaboración en la recogida de datos.

BIBLIOGRAFÍA

- Batalla, I., Pinto, M., Unamunzaga, O., Besga, G., del Hierro, (2015). The importance of how we report the results of climate impacts of food production. IV Workshop Remedia, Madrid 23-25 marzo.
- Bochu J.L., Metayer N., Bordet C., Gimaret M., (2013). Development of Carbon Calculator to promote low carbon farming practices – Methodological guidelines (methods and formula), Deliverable to EC-JRC-IES by Solagro. <http://lcafood2014.org/papers/70.pdf>.
- Comisión Nacional de los Mercados y la Competencia - CNMC, (2013). <http://goo.gl/8wa6w3>.
- Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A. y Tempio, G. (2013). Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería (F.A.O., Roma).
- Gestim, (2010). Guide methodologique pour l'estimation des impacts des activités agricoles sur l'effet de serre. Version 1.2 Institut de l'élevage, Paris.
- Gill M., Smith P., Winkinson J.M. (2010). *Animal*, 4 (3): 323-333.
- IPCC, (2006). IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Intergovernmental Panel of Climate Change (IPCC), National Greenhouse Gas Inventories Programme.
- IPCC, (2007). IPCC Fourth Assessment Report (AR4) Climate Change 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change. <http://www.ipccnggip.iges.or.jp/public/gl/invs1.htm>.

- Mandaluniz N., Arranz J., Ruiz R. (2015). IV Workshop Remedia. Madrid, 23-25 marzo.
- Pulina, G., Macciota, N. and Nudda. A. (2004). Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. *Ital. J. Anim. Sci.* 4: 5-14.
- Ripoll-Bosch R., de Boer I.J.M., Bernués A., Vellinga T.V. (2013). *Agricultural systems*, 116: 60-68.
- Ruiz, R., Díez-Unquera, B., Beltrán De Heredia, I., Mandaluniz, N., Arranz, J., Ugarte, E. (2009). 60th Annual Meeting of the EAAP, Book of Abstracts n°15: 73.
- Scheiner, H., Genber P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., Haan, C.D. (2006). Food and Agriculture organization of the United Nations, Rome, pp: 390.
- Teague W.R., Dowhower S.L., Baker S.A., Haile N., DeLaune P.B. y Conover D.M. (2011). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141: 310-322.
- De Vries, M., De Boer, D.J.M. (2003). *Livestock Science*, 198 (1-3): 1-11.

EFFECT OF FEEDING MANAGEMENT PRACTICES ON THE CARBON FOOTPRINT OF DAIRY SHEEP SYSTEMS

SUMMARY

The dairy sheep sector in the Basque Country has been traditionally based on the use of breed Latxa through pasture based production systems linked to the exploitation of local feed resources. However, there has been a certain intensification of feeding practices during these last years, with a reduction of grazing activity. The assessment of the carbon footprint (CF) of these systems is critical to improve their efficiency and reduce the emissions associated with livestock. According to the results the intensification reduces CF of the flocks. Moreover, also the incorporation of regenerative practices reduces CF, which could be an interesting mitigation alternative to reduce emissions associated with livestock maintaining their productivity.

Key words: Dairy sheep, carbon footprint, production systems.

ANTÚNEZ S.S.* y DE LUCAS, T.J.**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, México. FESC - UNAM.

* mvz_saras@hotmail.com; ** tronj@unam.mx.

RESUMEN

El presente estudio se integra al proyecto de caracterización de sistemas de producción en México y el objetivo fue caracterizar los de dos Municipios del Estado de México. Se realizó una encuesta a 20 productores. Para todos la ovinocultura aporta menos de la mitad de sus ingresos económicos. Además de ahorro y autoconsumo, 20% vende corderos engordados y 10% hembras para cría. 70% de los productores son hombres. 70% tienen de 33 a 51 años; el resto de 52 a 71. Todos tienen algún grado de escolaridad. 75% emplea mano de obra familiar, 15% externa permanente y 10% externa eventual. 65% tiene otras especies. En la tenencia de la tierra, 50% es ejido, 40% pequeña propiedad y 10% comunal. Del tamaño de los predios, 10% tienen de 1 a 5 ha; 10% de 6 a 10; 40% de 11 a 15; 30% de 16 a 20 y 10% más de 21 ha. Todos siembran maíz y 20% además avena. Del tamaño del rebaño 90% tienen menos de 60 cabezas. El 90% de los rebaños están encastados principalmente con *Dorper*, *Katahdin* y *Hampshire* y menos con *Suffolk*, *Pelibuey* y otros. Todos pastorean y complementan con forrajes y granos.

Palabras clave: Sistemas de producción, ovinos, aspectos sociales.

INTRODUCCIÓN

La ovinocultura mexicana con dificultades pero ha venido cambiando en los últimos años, así se aprecia entre los productores sobre todo del Altiplano Central, donde además de los marginados denominados del sector social que se caracterizan por su poca aplicación de tecnología y problemas sociales, se aprecia la aparición de un tipo en fase de transición que tiende hacia objetivos más empresariales que sean rentables (De Lucas, 2013; Salvador *et al.*, 2014 a y b). Los estudios de caracterización son fundamentales para identificar componentes, características y limitantes de los sistemas, para que a partir de ahí se puedan establecer estrategias de manejo y de mejoras acordes a sus necesidades y puedan tener efectos en su producción como lo han demostrado Castillo *et al.* (2014 a y b), esto es más cierto en un país como México que cuenta con una gran variedad de climas, regiones, recursos naturales, etnias y culturas, lo que hace que sus sistemas de producción varíen mostrando diferencias importantes entre las del norte, centro, costas y sur, obligando a que las posibles estrategias de mejora partan del conocimiento de las características y componentes de los sistemas de producción y no de propuestas que desconozcan sus componentes, por ello, dentro de una línea de investigación que ha venido abordando la caracterización de sistemas en distintas regiones de México, es que el objetivo del presente trabajo fue caracterizar, identificar y comprender los sistemas de producción ovina entre productores del Estado de México ubicados en el Altiplano Central.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en los Municipios de Temoaya y Almoloya de Juárez del Estado de México, localizado en el Altiplano Central. Siguiendo la metodología en el estudio de sistemas, se realizó una revisión documental de las características geográficas, económicas y poblacionales de la región. Con estos antecedentes y para establecer los componentes, características, interacciones y limitantes de los sistemas, se realizó un diagnóstico estático, a través de encuestas y entrevistas a 20 productores. Las encuestas comprendían 86 preguntas en las que se incluyeron aspectos sociales, productivos, reproductivos, nutricionales, sanitarios, de instalaciones, así como socioeconómicos y de comercialización. Los productores están integrados a un programa de asistencia técnica estatal de gobierno y que se quiere evaluar en el tiempo los efectos de la misma. La información fue vaciada para su análisis, considerando tendencias, porcentajes o proporciones según el caso.

RESULTADOS

Aspectos generales

Los Municipios donde se realizó el estudio se encuentran localizados en el Altiplano Central en el Estado de México alrededor del paralelo 19° de latitud norte, la altura es variable, pero están sobre los 2600 msnm, de ahí que el clima que predomina es el templado subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura anual promedio es de 12°C (3.8°C a 25°C) y la precipitación media anual es de 800 mm. Por su ubicación son Municipios bien comunicados y con una fuerte influencia indígena.

Aspectos Sociales

Para todos los productores la actividad además de ser para autoconsumo o ahorro, ya tiene algún objetivo comercial y los crían además para venta de corderos gordos y 10% también vende hembras para cría. Con relación a la edad el 50% de los integrantes oscilan en un rango de edad de 33 a 41 años, 20% de 42 a 51 años, 10% de los 52 a 61 años y 20% de 62 a 71 años. Todos tienen algún tipo de instrucción (Primaria con 5%, Secundaria 55%, Bachillerato 20% y Licenciatura 20%). Para el 75% la ovinocultura es una actividad familiar, ya que los encargados de los rebaños son los mismos productores o sus familiares (al menos 2), sólo 15% emplea trabajadores permanentes y 10% contrata trabajadores eventuales. El 50% de la tenencia de la tierra es ejido (forma de propiedad en México otorgada a campesinos y que básicamente se hereda y es difícil vender), le sigue la pequeña propiedad con 40% y 10% comunal. Los predios son chicos, 10% tienen de 1 a 5 ha, 10% de 6 a 10 ha, 40% de 11 a 15 ha, 30% de 16 a 20 ha y 10% más de 21 ha. Son tierras básicamente de temporal pero 20% tiene alguna parte de riego. De estas tierras el 20% destina un área para praderas que no superan las 2 ha. De los principales cultivos todos siembran maíz y 20% además avena.

Respecto al tamaño de los rebaños, son generalmente pequeños, ya que el 90% tienen menos de 60 cabezas (55% de 19 a 3; 25% de 32 a 44; 10% de 45 a 57) y el 10% de 58 a 70. Con respecto al componente racial, El 90% de los rebaños están encastados; con *Dorper* (30%), *Katahdin* (20%), *Hampshire* (20%) *Suffolk* (10%), *Pelibuey* (10%), y otros (10%). El 100% pastorean y complementa con forrajes y granos.

El 100% de los rebaños basan su alimentación en pastoreo en áreas comunales, el 80% además lo hace en residuos de cosecha y el 20% además utiliza sus praderas. Con relación a la decisión de elección de la zona de pastoreo, se basó principalmente en la disponibilidad de pastos, seguido por la cercanía, la facilidad de realizar el pastoreo y

por la calidad de los pastos; el recorrido que realizan para llegar a la zona de pastoreo es de 1 a 2 km en promedio. Todos los productores complementan con rastrojos y granos en especial en épocas de estiaje, de éstos los más utilizados son el maíz (60%), seguido de avena (20%), pasta de soya (13%), sorgo (5%), trigo (2%), dentro de éstos un 3% además añade algún tipo de concentrado. El 20% de los productores ofrecen algún suplemento mineral; el resto no sabe su utilidad. El 60% realizan engordas. Los ingredientes más utilizados en la engorda fueron: concentrados elaborados por ellos mismos 60%, rastrojos 40%, henos 20% y los que además adicionan algún concentrado comercial (15%). Del uso de los ingredientes, 60% los utiliza por recomendación, 30% porque cuenta con alguno (s) de ellos y 10% por el precio. Solo 20% utiliza como la pasta de soya. Prácticamente todos cuentan con corral de encierro, el 30% además tiene 2 corrales y el 10% tres. 30% tiene un corral de engorda, no se encontraron otras instalaciones como macheros, parideras o corral trampa. El 60% de los corrales está hecho con madera, el 20% de block y 10% de metal y otros 10%. Solo 30% lotifica su rebaño y la principal razón es para engorda. El corral es de piso de tierra (55%) y de concreto (45%). El 100% cuenta con techo en su corral: de metal el 70%, plástico (20%) y madera (5%), otros el resto. Además todos cuentan con comederos y bebederos y saladeros solo 20%. El 65% cuenta con otras especies siendo los bovinos, aves, cerdos y caballos los principales.

DISCUSIÓN

Los productores de este estudio de acuerdo a De Lucas (2010) y Salvador *et al.* (2014) están en fase de transición, es decir que están migrando del “sector social” porque ya no son personas marginadas de muy escasos recursos, también aunque atienden ellos mismos el ganado, algunos ya usan mano de obra contratada, es de destacar que sus niveles educativos, así como el tamaño de sus rebaños y la aplicación de alguna tecnología son mejores que los de otras regiones sobre todo del sur como Oaxaca (García *et al.*, 2010). Sin embargo, aún tienen poca tenencia de la tierra y rebaños no definidos, poca aplicación de tecnología y otras características de los productores del “sector social” (De Lucas y Arbiza, 2010). Esta ganadería como sucede con productores de otras entidades y regiones, es muy importante porque brinda empleo, alimento y recursos al núcleo familiar. Lo que muestra este estudio y otros recientes (García *et al.*, 2010; Solís *et al.*, 2012), es que a pesar de los años y nuevas tecnologías, un porcentaje importante de los productores no tienen cambios significativos en sus sistemas, no obstante que los precios de los ovinos se mantienen altos. Los cambios más significativos en los

productores de este estudio en el aspecto social son un aumento en la instrucción educativa, en sus instalaciones y en el productivo se advierte un mayor interés en suplementar y en engordar y tener dietas para este fin, señal de querer mejorar. Es claro que estudios como estos, deben ser la pauta para implementar programas de fomento en los cuales las mejoras y tecnologías que se propongan sean acordes a las necesidades y características de estos productores y no solo copiar y trasplantar aquellas que han funcionado en otras latitudes y con características diferentes.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados aquí obtenidos, si bien los productores aún muestran características del “sector social”, ya manifiestan una transición a una visión más empresarial. Este estudio contribuye al conocimiento de los sistemas de producción ovina en el país a través de identificar sus componentes, limitantes e interacciones, para que a partir de ello poder determinar qué acciones se pueden implementar y sean acordes a las necesidades y realidades de los productores. Así mismo permite en el tiempo detectar cambios o avances en los sistemas productivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014 a. Evaluación de la aceptación de tecnologías y manejos en productores del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de Sep.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014 b. Impacto de la aplicación de tecnologías y manejos sobre parámetros reproductivos en rebaños del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de Sep.
- De Lucas, T.J. 2013. Situación de los productos ovinos en México y sistemas de producción. En memorias del I Foro Panamericano ovino. Querétaro Qro. 21 de Marzo del 2013.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2010. Contribución de los ovinos y los caprinos a la ganadería Mexicana y sus perspectivas. En memorias del Simposio “La contribución de los ovinos y caprinos en la producción de alimentos”. Realizado como parte de los festejos XXXI aniversario del Colegio de posgraduados 10 de Septiembre. Texcoco Méx. México.
- García, S.R., Gómez, A.A., Rosales, C.F., De Lucas, T.J., Pérez, R.M. y Salvador, F.O. 2010. Sistemas de producción ovina en productores de la Mixteca Alta. I aspectos sociales y económicos. En memorias de la XLVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, V Reunión Nacional de Innovación Agrícola, V Reunión Nacional de Innovación Forestal y I Reunión Nacional de Innovación Acuícola y Pesquera. Centro de Convenciones Siglo XXI San Francisco de Campeche, Camp., 22-24 Noviembre de 2010.

- Salvador, F.O., Pérez, R.M.A. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. I. Aspectos generales y sociales. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de Sep.
- Salvador, F.O., Pérez, R.M.A., Castillo, H.G. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. II. Aspectos productivos y económicos. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de Sep.
- Solís, F.S., Pérez, R.M.A., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2012. Caracterización de sistemas de producción ovina en San Juan Cuauhtémoc, Tlahuapan Puebla. I. Aspectos generales y sociales. En Memorias del II foro internacional de ciencias e innovación tecnológica. Colima, Colima, México 26 al 28 de Septiembre del 2012.

CHARACTERIZATION OF SHEEP PRODUCTION SYSTEMS IN THE STATE OF MÉXICO. I. GENERAL AND SOCIAL ASPECTS

SUMMARY

This study is part of a greater project aiming to evaluate sheep production systems. The objective of this work was to characterize general and social aspects of sheep production systems in the State of México. A survey to 20 farmers from two municipalities was carried out. For 100% of the farmers, the production purpose is saving and self-consumption, for 20% is sale of lambs for meat and for 10% the sale for breeding. 70% of the farmers have between 33 and 51 years, 30% with more than 52 and 71. 100% of farmers have some level of education. The livestock owners or family members are the main responsible of the flock (75%), 20% have sheepers and only 10% use casual labor. Apart from sheep, 65% breed other species. 50% are ejido owners (a community land property system) and 40% have small land sizes, with 1 to 5 ha (10%), 6-10 ha (10%), 40% 11 - 15; 30% 16 - 20 and 10% >21 ha. Most farmers grow crops, the main ones being: corn (100%), oats (20%). Small flocks are predominant, where 90% have less than 60 sheep. 90% of flocks are crosses main with *Dorper*, *Katahdin* and *Hampshire*, and less with *Suffolk*, *Pelibuey* and others. 100% graze their flock, and supplement their livestock diets with forages and grains.

Key words: Sheep, production systems, social aspects.

CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA EN EL ESTADO DE MÉXICO. II. ASPECTOS PRODUCTIVOS Y ECONÓMICOS

ANTÚNEZ S.S.* y DE LUCAS, T.J.**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, México. FESC UNAM.

* mvz_saras@hotmail.com; ** tronj@unam.mx.

RESUMEN

Este estudio es parte de un proyecto amplio para determinar características productivas y económicas de sistemas de producción en distintas regiones de México. El objetivo fue caracterizar 2 Municipios del Estado de México, México. Se realizó una encuesta a 20 productores. Los resultados principales fueron: domina el empadre libre (90%), hay partos todo el año, pero se concentran principalmente de noviembre a enero (50%) y el 15% los atiende. 30% desteta, dominando lactaciones de más de 4 meses (70%); la relación semental – hembras fue de 1 para 30, Ningún productor revisa los machos antes del empadre. El 30% tiene alguna información del rebaño; las corderas de reemplazo son del mismo rebaño y se eligen por características subjetivas. 95% compra sementales y su vida productiva promedia 28 meses. 10% sabe las causas de muerte de sus animales, dominando diarreas y neumonías. El 20% desparasita estratégicamente y 10% vacuna. 30% tienen algún tipo de identificación. 90% comercializa sus corderos, (90%) con un intermediario y (5%) con el “barbacoyero” (hace barbacoa, platillo tradicional) y 5% con los vecinos, la mayor venta es en diciembre – febrero (70%), el precio vivo fue de 2.75 dólares/kg y por cordero gordo a bulto 110.34 dólares. 40% esquila. Principales problemas: alimentación, enfermedades, reproducción y comercialización.

Palabras clave: Sistemas de producción, ovinos, aspectos productivos y económicos.

INTRODUCCIÓN

Identificar los componentes de los sistemas de producción ovina, es fundamental si se quieren establecer estrategias de mejora que puedan tener un efecto positivo en la producción, al menos en productores del “sector social” que aquejan una serie de problemas tanto de orden social como productivo (De Lucas y Arbiza, 2010). Estudios recientes muestran que cuando se aplica esta metodología se pueden lograr resultados positivos en la parte productiva y por lo tanto económica (Castillo *et al.*, 2014 a y b). Entre los productores del “sector social” se aprecia el surgimiento de aquellos en fase de transición hacia una visión empresarial y que ven en la actividad una oportunidad de mejora económica, pero que muchas veces no saben cómo hacerlo (De Lucas, 2013). Los productores del “sector social” son los más numerosos en el país, en general tienen tradición en la cría ovina y se encuentran en regiones con influencia indígena, por ejemplo en el Altiplano Central o en Oaxaca (Salvador *et al.*, 2014; Gómez *et al.*, 2010). México tiene una gran variedad de climas, regiones, recursos naturales, etnias y culturas, de ahí que sus sistemas de producción varíen mostrando diferencias importantes entre las grandes regiones del norte, del centro, las costas y el sur, por ello, el objetivo del presente trabajo fue contribuir a la caracterización, identificación y a la comprensión de los sistemas de producción ovina entre productores del Estado de México, en sus aspectos productivos y económicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en los Municipios de Temoaya y Almoloya de Juárez del Estado de México, localizado en el Altiplano Central. Siguiendo la metodología en el estudio de sistemas, se realizó una revisión documental de las características geográficas, económicas y poblacionales de la región. Con estos antecedentes y para establecer los componentes, características, interacciones y limitantes de los sistemas, se realizó un diagnóstico estático, a través de encuestas y entrevistas a 20 productores. Las encuestas comprendían 86 preguntas en las que se incluyeron aspectos sociales, productivos, reproductivos, nutricionales, sanitarios, de instalaciones, así como socioeconómicos y de comercialización. Los productores están integrados a un programa de asistencia técnica estatal de gobierno en el que se quiere evaluar en el tiempo los efectos de la misma. La información fue vaciada para su análisis, considerando tendencias, porcentajes o proporciones según el caso.

RESULTADOS

Manejo Reproductivo

El 90% usan empadre libre (mantienen permanentemente los machos con las hembras). Del manejo durante la gestación solo 10% suplementa las ovejas al final de la misma. Se encontró que aunque las pariciones se presentan todo el año, hay épocas en que se concentran, destacando: de Noviembre a Enero 50%, Agosto a Octubre 30%, de Mayo a Julio 15% y de Marzo a Abril 5%. El 15% de los productores atienden los partos, y ayudan a parir a las ovejas si lo necesitan y el 5% las separa para darles atención especial (alimentación diferente y corraleta). Un 40% mencionó tener problemas al parto, de éstos, las distocias fueron los principales (30%), otras causas fueron corderos muy grandes (15%), por ser primíparas (10%) y por tener una pobre condición (5%). El abandono de las crías es un problema según el 60% de los productores. El 70% señaló que el periodo de lactación es de más de 4 meses y 30% de 3 meses. Todos los productores sacan a pastorear los corderos con sus madres y solo 5% los suplementa durante la lactancia para mejorar el crecimiento de los mismos. El 70% no desteta y las principales razones fueron por no saber cómo realizarlo y por no contar con alimento (90%). El 30% que desteta sus criterios son el peso (60%) y la edad (35%) y por no disponer de alimento (5%). El peso promedio al destete fue de 22 kg y 115 días de edad. La relación machos –hembras al empadre fue de 1 para 30. Ningún productor revisa los sementales antes del empadre y el 90% ni siquiera sabe la edad de sus machos, el 10% restante que dijo saberla en promedio fue de 1.8 años.

Control del rebaño y mejoramiento genético

El 30% registra alguna información del rebaño y fue: las ovejas paridas (45%), tipo de parto (15%), el peso de las crías al nacimiento (5%) edad y peso al destete (5%) y mortalidades (5%). El 100% de las hembras de reemplazo son del mismo rebaño; el 30% selecciona y considera principalmente a las de mayor tamaño, seguido del tipo racial. En cuanto a los machos, el 95% los compra y las principales razones fueron el tamaño (80%) y por la ganancia de peso que pudieran tener (15%), el resto otras. El cambio de semental se realiza cada 2.4 años (28 meses), la principal razón fue para evitar consanguinidad (80%) o por fin de la vida productiva (20%). El 48% desecha animales y los principales criterios son: la edad (60%), por delgadas (25%) y por alguna enfermedad (15%).

Sanidad

El 100% de los productores señalaron muerte de sus animales por enfermedad. De éstos, 70% fueron corderos, 26% hembras adultas, 3%

sementales y 1% en la engorda. Solo 10% determina la causa de muerte y las principales fueron: diarreas (50%), neumonías (25%), timpanismo (10%), problema de ojos (10%) y gabarro (5%). Los animales más afectados por las diarreas y neumonías son los corderos (85%) y los adultos por gabarro. La mortalidad en los rebaños tiene rangos amplios y los más afectados fueron los corderos, seguida de hembras adultas. El 100% de los productores desparasita, de estos, el 20% lo hace de forma estratégica 2 veces al año, el 80% desparasita una vez. Los principales productos utilizados son la ivermectina (80%) y closantil (15%), el resto otros. El 10% vacuna una vez al año. El 15% reportan abortos y solo el 10% está en la campaña contra Brucella. El 40% recurre al veterinario cuando tiene problemas.

Prácticas de Rutina

El 10% de los rebaños tiene algún tipo de identificación, el método empleado es el arete de SINIIGA (sistema de identificación oficial), 70% visualmente. El 80% mencionó que el sistema de identificación que utiliza es efectivo. El 100% descola los corderos y la principal razón es por estética (60%), para evitar problemas sanitarios (30%) y evitar problemas reproductivos (10%). Los métodos empleados son las ligas (70%) y el cuchillo (30%).

Comercialización

El 90% de los productores vende corderos gordos, aunque también venden, hembras para cría (10%), desechos (10%), corderos destetados (5%) y sementales (25%). El precio lo determina el peso vivo (80%) y la edad (20%). El principal consumidor es el intermediario (90%), seguido del barbacoyero (5%) y después los vecinos (5%). La época de más venta es de Diciembre a Febrero (70%), Junio a Agosto (15%) de Marzo a Mayo (10%) de Septiembre a Noviembre (5%). El mejor precio fue de Noviembre - Enero (75%) y Junio - Agosto (25%). El precio por kg fue de \$40.00 pesos (\$2,75 dólares) para el cordero gordo en pie y \$1,600.00 pesos (\$110.34 dólares). Para el cordero destetado fue de \$800.00 (\$55.17) y la oveja de desecho a bulto \$1,000.00 (\$68.96 dólares) y por kg \$30.00 (\$2.06 dólares) (1 dólar 15.0 pesos y un euro 16.00 pesos). Respecto a la lana, el 40% esquila, de estos el 60% la realiza una vez al año y el 40% 2 veces. Los Principales problemas de los productores son los relacionados con la alimentación, seguido de las enfermedades, aspectos reproductivos y por último los referentes a la comercialización.

DISCUSIÓN

La mayoría de los productores ovinos de este estudio por sus características pertenecen al llamado de transición, porque además

de tener algunos cambios en el aspecto social ya aplican algunas tecnologías (De Lucas, 2013; Salvador *et al.*, 2014). Los cambios más significativos son en la parte sanitaria, ya que todos desparasitan y algunos vacunan aunque sin saber bien contra qué, engordan algunos de sus corderos y los venden con precios de mercado. Sin embargo, siguen presentando muchas de las características negativas que caracterizan a los productores del “sector social” en la parte reproductiva, genética o sanitaria como lo señalan varios estudios (Solís *et al.*, 2012; Salvador *et al.*, 2014)

CONCLUSIONES

Los resultados de este diagnóstico, permiten caracterizar los sistemas de producción y entender la realidad de productores ubicados en el Estado de México, México, donde la cría de ovinos es una actividad tradicional, que sigue adoleciendo de serios atrasos, pero que podría tener un desarrollo económico importante y convertirse en una actividad rentable que satisfaga o contribuya a las necesidades de sus tenedores y se traduzca en una mejor forma de vida. Para esto es necesario que los programas de fomento se basen en estos estudios como este que permitan implementar mejoras y tecnologías acordes a las necesidades y características de estos productores y no solo copiar y trasplantar algunas que han funcionado en otras latitudes y con características diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

- De Lucas, T.J. 2013. Situación de los productos ovinos en México y sistemas de producción. En memorias del I Foro Panamericano ovino. Querétaro, Qro. 21 de Marzo del 2013.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2010. Contribución de los ovinos y los caprinos a la ganadería Mexicana y sus perspectivas. En memorias del Simposio “La contribución de los ovinos y caprinos en la producción de alimentos”. Realizado como parte de los festejos XXXI aniversario del Colegio de posgraduados 10 de Septiembre. Texcoco Méx. México.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014a. Evaluación de la aceptación de tecnologías y manejos en productores del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de Sep.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014 b. Impacto de la aplicación de tecnologías y manejos sobre parámetros reproductivos en rebaños del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de Sep.

- Gómez, A.A., García, S.R., Rosales, C.F., De Lucas, T.J., Pérez, R.M. y Salvador, F.O. 2010. Sistemas de producción ovina en productores de la mixteca alta. II aspectos reproductivos y productivos. En memorias de la XLVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, V Reunión Nacional de Innovación Agrícola, V Reunión Nacional de Innovación Forestal y I Reunión Nacional de Innovación Acuícola y Pesquera. Centro de Convenciones Siglo XXI San Francisco de Campeche, Camp., 22-24 Noviembre de 2010.
- Salvador, F.O, Pérez, R.M.A. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el Estado de Tlaxcala, México II. Aspectos Productivos y Económicos. De la SEOC SEOC 2014 Ourense, España. Septiembre 17 al 19 de 2014. Pp 547 - 552.
- Solís, F.S., Pérez, R.M.A., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2012. Caracterización de sistemas de producción ovina en San Juan Cuauhtémoc, Tlahuapan Puebla. I. Aspectos generales y sociales. En Memorias del II foro internacional de ciencias e innovación tecnológica. Colima, Colima, México 26 al 28 de Septiembre del 2012.

CHARACTERIZATION OF SHEEP PRODUCTION SYSTEMS IN THE STATE OF MÉXICO. II. PRODUCTIVE AND ECONOMIC ASPECTS

SUMMARY

The objective of this work was to characterize the productive and economic aspects of sheep production systems in the State of México, located in the Mexican High Plateau. A survey to 20 farmers was carried out. The most dominant reproductive management is free breeding (90%), with lambings all year long, but mainly from November to January (50%). 70% of the total farmers do not wean lambs, with lactations over 4 months (70%). The ratio of ram: ewes was 1 to 30, and a none of farmers check the rams before mating. 30% have some records of their flock; the ewe replacement come from the same flock and are chosen by subjective characteristics. 95% buy their rams, which average a productive life of 28 months. 10% know the causes of death of their livestock, caused mainly by diaorrhoea and pneumonia. 100% of farmer worm their flock and 10% vaccinate it. 30% of farmers use some kind of identification method in their flock. 90% sell lambs and the main buyer is an intermediate and less the “*barbacoyero*” and neighbors, the main selling season is from December to February with an average price of 2.7 US\$ per kg and 110 US\$ per lamb. 40% of farmers shear their flock. The main problems in sheep production are the diet, diseases, reproduction and commercialization.

Key words: Sheep, production systems, reproductive and productive parameters.

APROXIMACIÓN A UN SISTEMA DE EVALUACIÓN DEL BIENESTAR EN CEBADEROS DE CORDEROS

BELLO, J.M.¹; MANTECÓN, A.R.²; RUIZ, S.¹; ALVAREZ, C.¹; MUÑOZ, V.¹ y LAVIN, P.²

¹NANTA, S.A. Ronda de Poniente, 9. 28460 Tres Cantos. Madrid (España).

²IGM-CSIC-ULE. Finca Marzanas. 24346 Grulleros. León (España).

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es evaluar el bienestar de los corderos en cebaderos comerciales a partir de indicadores ambientales, de manejo y de las instalaciones y su relación con la mortalidad de los corderos y el número de corderos de la explotación. Los resultados obtenidos muestran un porcentaje de bajas de corderos menor en los controles con mayor puntuación en los indicadores de bienestar global, así como en las puntuaciones de bienestar en el manejo y ambiental que se corresponden, al mismo tiempo, con los que presentan un menor número de animales.

Palabras clave: Bienestar, cebo, corderos.

INTRODUCCIÓN

Garantizar el bienestar de los animales es una demanda creciente de la sociedad actual y que puede aportar en un futuro próximo un valor añadido a la calidad de los productos, además de ser un condicionante de la productividad en los sistemas más intensivos donde el incrementar la carga animal puede llevar a problemas relacionados con el bienestar animal aumentando las bajas (María, 2009). En este contexto y ante la previsión de restricciones en el uso de medicamentos en el cebo de corderos surge como alternativa la optimización del bienestar, favoreciendo las mejores condiciones ambientales, de manejo y en las instalaciones, que permitan un estado sanitario adecuado y para ello se

requiere la utilización de indicadores como herramienta para valorar el bienestar de los corderos en el cebadero como base para establecer planes de mejora en los puntos débiles detectados. Disponer de unos índices que permitan la evaluación del bienestar animal es uno de los principales condicionantes en la actualidad, en este sentido en el ganado ovino y caprino de ordeño se han realizado aproximaciones, evaluando la relación de estos índices con aspectos productivos (Bello *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo es analizar el bienestar de los corderos en cebaderos comerciales a partir de indicadores ambientales, de manejo y de bienestar en las instalaciones (metodología establecida por GRUPO NANTA) y su relación con la mortalidad de los corderos y el número de animales presentes en el cebadero.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se ha utilizado la información obtenida en 8 cebaderos de corderos localizados en Aragón (4), Castilla y León (1), Extremadura (1) y Portugal (2), donde se realizaron un total de 28 controles del bienestar de los animales a lo largo del estudio (desde septiembre 2004 a diciembre 2014). Para su valoración se consideraron 14 indicadores de bienestar; 4 ambientales (temperatura, corrientes de aire, ventilación y ambiente cargado), 5 de manejo (densidad animal, calidad de cama, confort de los animales, animales estresados y limpieza de las animales), 3 de instalaciones (comederos forraje, comederos pienso y bebederos) y 2 de alimentación (consistencia heces y condición corporal). Cada uno de los indicadores se puntuó de 1 a 10 de peor a mejor valoración. Con los datos medios de las puntuaciones dadas en cada control se obtuvo la valoración del bienestar global. Para ver el efecto del tamaño del cebadero sobre los índices de bienestar de los corderos y la relación de estos con la mortalidad. Para su cálculo se registró el número de bajas de corderos producidas en el mes de la visita (a) y el número medio de corderos presentes en el cebadero en ese mes (b), a partir del cual se calculó el índice de porcentaje de bajas de corderos ($a/b*100$) estableciendo tres grupos; Bajo <1% (n=12), Medio de 1 a 2% (n=10) y Alto >2% (n=6) y dos grupos según los corderos presentes en el cebadero: <3000 corderos (n=15) y >3000 corderos (n=13). Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS v22.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los criterios utilizados para la puntuación (*inadecuada* (3-4), *aceptable* (5-6) y *óptima* (7-8)) de los distintos

indicadores considerados en este trabajo, las puntuaciones 1 ó 2 (*muy deficiente*) y 9 ó 10 (*excelente*) se refieren a condiciones extremas y muy excepcionales, que no se han dado en ninguno de los controles realizados en este trabajo.

Tabla 1. Plantilla de recogida de información del bienestar de los corderos en los cebaderos con las puntuaciones establecidas para los distintos indicadores considerados.

INDICADOR	CONCEPTO	PUNTUACIÓN: CRITERIOS	
Temperatura	En que se desenvuelven los animales en el momento del chequeo	3-4	<1°C y >32°C
		5-6	Entre 1°C y 15°C y 25°C y 32°C
		7-8	Entre 15°C y 25°C
Corrientes de aire	Incidencia e intensidad de las corrientes de aire en animales	3-4	Corrientes de lleno en los animales o alta intensidad
		5-6	Corrientes evidentes pero animales protegidos
		7-8	No hay corrientes evidentes. Prueba del mechero
Ventilación	Vol. Estático y entradas/salidas de aire	3-4	No cumple ninguno de los dos requisitos
		5-6	Cumple alguno de los dos requisitos
		7-8	Vol estático >1,5 m ³ /an. Entradas>0,0 4m ² , salidas >0,02 m ²
Ambiente cargado	Carga amoniacal. Percepción olfativa del evaluador	3-4	Evidente carga amoniacal, irritación ocular del evaluador
		5-6	Leve carga amoniacal. Olor en la ropa del evaluador
		7-8	No hay olor perceptible. No queda olor en la ropa
Densidad animales	Incidencia e intensidad de las para cada animal	3-4	<0,3 m ² por animal
		5-6	Entre 0,3 y 0,5m ² por animal
		7-8	>0,5 m ² por animal
Calidad cama	Grado de humedad de la cama y cantidad de paja	3-4	Cama sucia, escasa o húmeda (o al menos dos de ellas)
		5-6	Cama limpia y seca. Más paja que excrementos
		7-8	Cama limpia, seca y abundante
Confort animales	Humedad, tranquilidad, distancias	3-4	Humedad o goteo sobre animales o ruido o mal aislamiento
		5-6	Ausencia de las tres
		7-8	Ausencia de las tres y distancias correctas, comer y beber
Animales estresados	Estado y conducta de los animales durante la visita	3-4	60% de animales de pié. Lamiendo paredes o rascándose
		5-6	60 y 80% de animales tumbados. No signos de estrés
		7-8	Más del 80% de animales tumbados y descansando

INDICADOR	CONCEPTO	PUNTUACIÓN: CRITERIOS	
Limpieza animales	Grado de limpieza de los animales en capa y patas	3-4	Capa sucia con barro o patas claramente sucias
		5-6	Capa limpia. Patas manchadas por debajo del corvejón
		7-8	Capa limpia y brillante. Patas totalmente limpias y secas
Comederos pienso	Espacio de comederos y limpieza de los mismos	3-4	>50 an/m comedero. Ranura de comedero sin limpiar
		5-6	20 a 40 an/m comedero. Limpio y pienso en buen estado
		7-8	<20 an/m comedero. Limpio y pienso en buen estado
Comederos forraje	Espacio de forrajeras y limpieza y presencia de forraje	3-4	>40 an/m forrajera y/o insuficiente paja y/o en mal estado
		5-6	15 a 30 an/m forrajera. Limpia y paja en buen estado
		7-8	<15 an/m forrajera. Limpio y paja en buen estado
Bebederos	Limpieza de bebederos y Disponibilidad de los mismos	3-4	<1 punto/30 an o <1 m/100 an, o sucios, algas etc.
		5-6	Bebederos suficientes y limpios, sin algas. Agua limpia
		7-8	Además de lo anterior, que eviten desplazamientos de an
Consistencia heces	Grado de acuosidad y presencia de agua en las heces	3	Totalmente acuosas y líquidas
		4	Claras, pastosas y profusas, o bien, bolas secas y aisladas
		5-6	Bolas bien definidas y unidas
		7-8	Consistencia media formando acúmulos de tamaño medio
Condición corporal (cc)	Evaluado por palpación	2	CC (2,75)
		3-4	CC (3-3,5)
		5-6	CC (3,75-4)
		7-8	CC (4,25-4,5)

Los indicadores de consistencia en heces y condición corporal como indicadores de la alimentación no se han considerado en la evaluación global del bienestar animal ya que los controles se han realizado en corderos con distinto tiempo en cebadero.

Como se muestra en la tabla 2 el indicador de bienestar global presento un valor medio en los controles realizados de $6,0 \pm 0,12$ que correspondería con unas condiciones en su conjunto “aceptables” oscilando desde un valor mínimo de 5,1 a un máximo de 6,8. En los indicadores de bienestar ambiental y de las instalaciones el 7,1% de los controles mostraron una puntuación por debajo de la puntuación considerada aceptable

(5 puntos), mientras que solo el 3,6% de los controles no llegaron a esta puntuación en el la valoración de indicadores de bienestar en el manejo.

Tabla 2. Valores medios de los indicadores de bienestar animal en cebaderos de corderos para los tres grupos establecidos según el porcentaje de bajas de corderos y correlaciones entre los indicadores de bienestar y las bajas de corderos (%).

	Media	Min	Max	Bajo <1%	Medio 1-2%	Alto >2%	P	Correl.
Bajas mes (%)	1,41	0,10	4,40	0,63	1,46	2,91	***	
Existencias mes (n°)	3189	278	12591	1859 ^a	3687 ^{ab}	5018 ^b	*	0,419*
Indicadores de bienestar ambiental (a)	6,0	4,5	7,0	6,3 ^b	6,1 ^b	5,3 ^a	**	-0,524**
Temperatura (a1)	6,1	4	8	6,5 ^b	6,1 ^{ab}	5,5 ^a	t	ns
Corrientes de aire (a2)	6,2	4	7	6,3	6,3	6,0	ns	ns
Ventilación (a3)	6,0	3	7	6,3 ^b	6,2 ^b	5,2 ^a	t	ns
Ambiente cargado (a4)	5,6	3	7	5,9 ^b	5,9 ^b	4,3 ^a	**	-0,529**
Indicadores de bienestar en el manejo (b)	6,1	4,6	7,2	6,5 ^b	6,0 ^{ab}	5,5 ^a	**	-0,626**
Densidad animales (b1)	6,4	3	8	7,2 ^b	6,3 ^b	5,0 ^a	**	-0,564**
Calidad cama (b2)	6,1	4	8	6,5	5,9	5,5	ns	-0,504**
Confort animales (b3)	6,0	5	7	6,3	6,0	5,7	ns	ns
Animales estresados (b4)	5,9	4	7	6,2	5,7	5,8	ns	ns
Limpieza animales (b5)	6,0	4	7	6,3 ^b	5,9 ^{ab}	5,3 ^a	t	-0,453*
Indicadores de bienestar en las instalaciones (c)	5,9	4,3	6,7	5,9	5,8	6,2	ns	ns
Comederos pienso (c1)	6,0	4	7	5,9	5,8	6,3	ns	ns
Comederos paja (c2)	6,3	5	7	6,2	6,2	6,5	ns	ns
Bebedores (c3)	5,6	4	7	5,8	5,3	5,7	ns	ns
Indicadores bienestar Global (a+b+c)	6,0	5,1	6,8	6,3 ^b	6,0 ^{ab}	5,6 ^a	*	-0,554**
Indicadores (a4+b1+b2+b5)	6,0	4	7,0	6,5 ^b	6,0 ^b	5,0 ^a	***	-0,684**
Indicadores alimentación Consistencia heces	6,0	3	7	5,8	6,2	6,0	ns	ns
Condición corporal	5,6	2	7	6,2 ^b	5,6 ^{ab}	4,5 ^a	*	-0,577**

Valores en la misma fila con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p < 0,05$). (***) $p < 0,001$, (**) $p < 0,01$, (*) $p < 0,05$, t: $p < 0,1$, ns: no significativo ($p > 0,05$).

Los datos presentados muestran a los indicadores de manejo como los que presentan una correlación mas alta y negativa con el porcentaje de corderos muertos, no siendo significativa la correlación con los indicadores de bienestar en las instalaciones. Así mismo, se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos establecidos según el índice de bajas de corderos en los indicadores de bienestar global y de manejo.

El tamaño del cebadero (corderos presentes en el cebadero en el momento de la visita) presento una correlación negativa y estadísticamente significativa (-0,667) con el indicador de bienestar global como se presenta en la tabla 3, con correlaciones significativas en todos los indicadores de manejo considerados, al mismo tiempo que fueron estadísticamente significativas las diferencias entre los grupos de tamaño y el porcentaje de bajas de corderos, de forma que estas fueron mas del doble en los cebaderos de mayor tamaño.

Son los cebaderos que tienen mayor número de corderos los que presentan un menor valor en las puntuaciones de bienestar global y en los indicadores de bienestar ambiental (ventilación y ambiente cargado) y de bienestar en el manejo (densidad animal y confort de los animales), no mostrando los indicadores de bienestar en las instalaciones diferencias significativas entre los grupos de tamaño establecidos.

Tabla 3. Valores medios de los indicadores de bienestar animal en cebaderos de corderos para los dos grupos establecidos según el tamaño del cebadero (número corderos presentes) y correlaciones entre los indicadores de bienestar y el tamaño.

	<3000 corderos			>3000 corderos			P	Correl.
	Media	Mín	Máx	Media	Min	Max		
Existencias/mes (n°)	1619	278	2843	5000	3092	12591	***	
Bajas mes (%)	0,89	0,10	1,75	2,01	0,19	4,44	**	0,419*
Indicadores de bienestar ambiental (a)	6,27	5,5	6,8	5,67	4,5	7,0	*	-0,553**
Temperatura (a1)	6,33	6,0	7,0	5,92	4,0	8,0	ns	-0,551**
Corrientes de aire (a2)	6,27	4,0	7,0	6,15	5,0	7,0	ns	ns
Ventilación (a3)	6,53	6,0	7,0	5,46	3,0	7,0	**	-0,395*
Ambiente cargado (a4)	5,93	5,0	7,0	5,15	3,0	7,0	*	ns
Indicadores de bienestar en el manejo (b)	6,37	5,6	7,2	5,74	4,6	6,8	**	-0,641**
Densidad animales (b1)	7,00	4,0	8,0	5,69	3,0	8,0	*	-0,524**
Calidad cama (b2)	6,33	5,0	8,0	5,77	4,0	7,0	ns	-0,464*
Confort animales (b3)	6,27	5,0	7,0	5,77	5,0	7,0	*	-0,612**
Animales estresados (b4)	6,13	5,0	7,0	5,69	4,0	7,0	t	-0,414*
Limpieza animales (b5)	6,13	4,0	7,0	5,77	4,0	7,0	ns	ns
Indicadores de bienestar en las instalaciones (c)	5,98	5,0	6,7	5,87	4,3	6,7	ns	ns
Comederos pienso (c1)	5,93	5,0	7,0	6,00	4,0	7,0	ns	ns
Comederos paja (c2)	6,27	5,0	7,0	6,23	5,0	7,0	ns	ns
Bebederos (c3)	5,73	4,0	7,0	5,38	4,0	7,0	ns	ns
Indicadores bienestar Global (a+b+c)	6,24	5,6	6,8	5,75	5,1	6,7	*	-0,667**
Indicadores alimentación Consistencia heces	5,93	5,0	7,0	6,08	3,0	7,0	ns	ns
Condición corporal	6,20	5,0	7,0	4,92	2,0	6,0	**	ns

Valores en la misma fila con diferente superíndice son significativamente diferentes ($p < 0,05$).
 (***) $p < 0,001$, (**) $p < 0,01$, (*) $p < 0,05$, t: $p < 0,1$, ns: no significativo ($p > 0,05$).

CONCLUSIONES

Los indicadores de bienestar propuestos, permiten obtener una puntuación del bienestar de los corderos en los cebaderos comerciales tanto global como del ambiente, manejo e instalaciones, obteniendo un valor del indicador de bienestar global en todos los controles que correspondería a unas condiciones en su conjunto “aceptables”. Son los indicadores de manejo los que su puntuación muestra una correlación mas alta aunque inversa tanto con el porcentaje de corderos muertos como con el número de corderos del cebadero, no mostrando relación con los indicadores de bienestar en las instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Bello, J.M., Calvo, R., Mantecón, A.R., Lavín, P. (2011). Variaciones en el bienestar del ganado ovino y caprino de producción de leche en condiciones prácticas de explotación: diferencias entre regiones, tamaños de explotación y nivel de producción. SEOC, 291-294.
- Maria, G.A. (2009). Consecuencias de la intensificación sobre el bienestar animal en corderos. SEOC, 82-103.

WELFARE EVALUATION SYSTEM APPROACH IN FEEDLOT LAMBS FEEDLOT

SUMMARY

The aim of this study is to evaluate the welfare of commercial feedlot lambs from environmental, management and facilities and their relationship with mortality of lambs and lambs number of farm. The results show a lower mortality of lambs when the indicators of global welfare, as well as environmental and management welfare parameters were higher and those corresponding with a lower number of animals.

Key words: Welfare, feedlot, lambs.

SALVADOR, F.O.*; CASTILLO, H.G.; PÉREZ, R.M.A. y DE LUCAS, T.J.

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México Carretera Cuautitlán Teoloyucan S/N, Cuautitlán Izcalli Méx. México.

* omsafl@hotmail.com

RESUMEN

Se evaluó la adopción de 17 tecnologías derivadas de un diagnóstico previo en 109 rebaños del Estado de Tlaxcala México. Se capacitaron los productores sobre los objetivos y beneficios de su aplicación y se evaluó la adopción o no de las mismas. Los resultados pre y post capacitación fueron: control de montas 33% *vs.* 78%; evaluación del rebaño de cría e identificación de animales improductivos 40% *vs.* 89%; evaluación de machos y hembras pre monta 15% *vs.* 59%; implementación del efecto macho 18% *vs.* 61%; aplicación de selenio pre monta y al final de la gestación 35% *vs.* 96% y aplicación de selenio a los corderos 58% *vs.* 99%; desparasitación estratégica 38% *vs.* 90%; vacunación último tercio de gestación o ubradas 32% *vs.* 71%; atención en el periparto 40% *vs.* 83; implementación de corraletas paridero movibles 2% *vs.* 11%; implementación de alternativas de alimentación 15% *vs.* 84%; conservación de forrajes 71% *vs.* 86%; evaluación de indicadores 4% *vs.* 39%; destete (requisitos y parámetros) 29% *vs.* 77%; estandarización de lotes de corderos para finalización 18% *vs.* 60%; acondicionamiento del corral de engorda (instalaciones, alimento y espacio) 25% *vs.* 74%; diseño e implementación de dietas para la finalización 22% *vs.* 67%.

Palabras claves: Ovinos, tecnología, transferencia, productores sociales.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los productores ovinos en México pertenecen al llamado “sector social” (De Lucas y Arbiza, 2010; Cuellar *et al.*, 2012), que en resumen son: gente de escasos recursos, atienden ellos mismos el ganado, niveles educativos bajos, familias numerosas, poca tenencia de la tierra, rebaños pequeños y no definidos, mínima aplicación de tecnología y magra productividad. No obstante, esta ganadería es muy importante porque brinda empleo, alimento y recursos a sus tenedores. El estudio de estos sistemas, muestra que a pesar de los años y nuevas tecnologías, no hay cambios significativos en los mismos a pesar de que se han implementado un sinnúmero de programas de apoyos gubernamentales federales y estatales, pero con pobres o nulos resultados, al no ser considerada la problemática de los productores y tratar de imponer tecnologías que no son acordes a sus necesidades. Basado en un diagnóstico estático previo (Salvador *et al.*, 2014 a y b) y una experiencia previa con 23 productores que se capacitaron en los beneficios y efectos sobre la aplicación de 10 tecnologías (Castillo *et al.*, 2014 a), es que se eligieron nuevas, para ser aplicadas, por ello el objetivo de este estudio fue evaluar la adopción de 17 tecnologías o manejos, derivadas del estudio previo de caracterización de los sistemas de producción en el Estado de Tlaxcala, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló con 109 productores de ovinos del sector social, aceptados en un programa gubernamental que busca mejorar los sistemas de producción pertenecientes al Estado de Tlaxcala, el cual se encuentra localizado en el Altiplano Central del México, con alturas superiores a los 2,300 msnm, caracterizado por un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura anual promedio es de 14°C (1.5° a 25°C) y la precipitación media anual es de 720 mm. Por su ubicación es un Estado bien comunicado que tiene una fuerte influencia indígena. Basado en un diagnóstico estático de caracterización de los sistemas (Salvador *et al.*, 2014 a y b) y una experiencia muestral previa con 23 productores que se capacitaron en los beneficios y efectos sobre la producción de 10 tecnologías (Castillo *et al.*, 2014 a y b), se eligieron 17 tecnologías y manejos factibles de aplicar, que consistieron en: control de montas; evaluación del rebaño de cría e identificación de animales improductivos; evaluación de machos y hembras próximas pre montas; implementación del efecto macho; aplicación de selenio a hembras y machos pre montas, al final de la gestación y a corderos; desparasitación estratégica (previo muestreo y aplicación de FAMACHA); aplicación de vacuna en ovejas último tercio de gestación o ubradas

para prevenir neumonías y clostridiasis; atención del periparto; implementación de corraletas paridero movibles; implementación de alternativas de alimentación; conservación de forrajes; evaluación de indicadores; destete (requisitos y parámetros); estandarización de lotes de corderos para finalización; acondicionamiento del corral de engorda (instalaciones, alimento y espacio); diseño e implementación de dietas para la finalización. Para ello se les capacitó sobre los objetivos y beneficios de las tecnologías elegidas y se avaluó la adopción o no de las mismas.

RESULTADOS

Cinco productores (4,5%) aunque identificaron el ganado no llevaron registros, por lo mismo algunas tecnologías no podían ser evaluadas, requiriendo de un análisis por separado y no fueron contemplados en este estudio. En la tabla 1, se muestran los resultados del resto de los productores (104 = 95,5%) en cuanto al estatus de las tecnologías propuestas pre y post capacitación. Se aprecia claramente que en todas hay incrementos. Algunas importantes como la desparasitación estratégica o la aplicación de selenio rebasaron el 90%; evaluación del rebaño de cría e identificación de animales improductivos, la atención de las ovejas en el periparto, la implementación de alternativas de alimentación o la conservación de forrajes rebasaron el 80%; el control de montas y la aplicación de vacunas superaron el 70%; la evaluación de machos y hembras próximas a las montas y la implementación del efecto macho rebasaron el 59%. Las tecnologías involucradas en la finalización de los corderos (engorda) se ubicaron entre 60 y 77% y la evaluación de indicadores con 39% y la implementación de corraletas paridero con 11% fueron las tecnologías menos aceptadas.

DISCUSIÓN

El fracaso de los programas de extensión o de apoyos económicos a productores de pequeños rumiantes ha sido recurrente por muchos años, de tal forma que los ovinocultores en especial del sector social que son los más necesitados y marginados, por años no han reflejado mejoras en su producción (De Lucas, 2013), esto de acuerdo a De Lucas y Arbiza (2000), ha sido resultado de no considerar la problemática de los productores y entender sus sistemas de producción, derivando en que no se implementen tecnologías o manejos acordes a sus necesidades. Partiendo de la metodología de sistemas de primero hacer un diagnóstico estático (a través de encuestas) para establecer las características, componentes y limitantes de los sistemas, es que se han

venido definiendo una serie de tecnologías factibles de aplicar entre productores de Tlaxcala (Salvador *et al.*, 2014 a y b). En un primer estudio sobre esta base, con una muestra de 23 productores se evaluó la aceptación de 10 tecnologías o manejos (Castillo *et al.*, 2014 a) y sus efectos sobre parámetros productivos, obteniéndose resultados muy alentadores (Castillo *et al.*, 2014 b). Estos estudios mostraron algunos aspectos fundamentales; el primero que las tecnologías elegidas provenían de necesidades expresadas por los productores, la segunda que no se trataba nada más de decir que las aplicaran, sino que se requería de un proceso de enseñanza durante varios meses y de sensibilizar sobre los beneficios esperados y la tercera que una vez que se mostraban resultados positivos, algunas tecnologías o manejos fueron adoptados plenamente. Sobre esta premisa, los resultados de este estudio confirman que esta metodología de hacer cambios acordes a la problemática real de los productores, tiene efectos positivos en sus sistemas y una posible mejora en la rentabilidad de sus unidades de producción, y con ello del bienestar de sus familias. Sin embargo, la no plena adopción de algunas de las tecnologías propuestas, obliga a un análisis minucioso de las posibles causas, por ejemplo, porqué la evaluación de machos y hembras próximas a las montas y la implementación del efecto macho se quedan en porcentajes cercanos al 60% o porqué la implementación de corraletas de parición fue la tecnología menos aceptada con un incremento de tan solo 11% de aceptación. Algunas, como las involucradas en la engorda de corderos pueden ser entendibles dado que implican gastos o cambios que no pueden efectuar con facilidad. Finalmente estos estudios demuestran que mientras los programas gubernamentales como el caso del PROGAN (Programa ganadero nacional) no consideren las características y necesidades de los productores serán programas fallidos como lo han sido hasta ahora.

Tabla 1. Resultados de la adopción de manejos o tecnologías en 104 productores del sector social en el Estado de Tlaxcala.

Tecnologías	Antes %	Después %	Incremento %
Evaluación del rebaño de cría e identificación de animales improductivos	40	89	49
Evaluación de machos y hembras próximas a las montas	15	59	43
Implementación del efecto macho	18	61	43
Aplicación de Se a animales antes de la monta y al final de la gestación	35	96	62
Aplicación de selenio a los corderos	58	99	41
Control de montas	33	78	46
Desparasitación estratégica	38	90	52
Vacunación en último tercio de gestación	32	71	39
Atención de la oveja en el periparto	40	83	42
Implementación de corraletas paridero movibles	2	11	9
Implementación de alternativas de alimentación	15	84	68
Conservación de forrajes	71	86	14
Evaluación de indicadores	4	39	36
Destete (requisitos y parámetros)	29	77	48
Estandarización de lotes de corderos para finalización	18	60	41
Acondicionamiento del corral de engorda	25	74	49
Diseño e implementación de dietas para la finalización	22	67	45

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo son alentadores, en el sentido de que las tecnologías o manejos adoptados fueron por voluntad de los productores y de que están en concordancia a los componentes y limitantes detectadas en sus rebaños, se requiere de un análisis más profundo de las razones de que algunas tecnologías no sean aceptadas plenamente y finalmente da pauta a que los programas gubernamentales cambien su forma de transferir tecnología y de apoyos económicos.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Gloria Meléndez Roca, Directora de Desarrollo Rural perteneciente a la Secretaria de Fomento Agropecuario Tlaxcala, por las facilidades para la realización de éste trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014 a. Evaluación de la aceptación de tecnologías y manejos en productores del sector social en Tlaxcala, México. Memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Ourense España 17 a 19 de sep.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2014 b. Impacto de la aplicación de tecnologías y manejos sobre parámetros reproductivos en rebaños del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de sep.
- Cuellar, O.J.A., Tórtora, P.J., Trejo, G.A. y Román, R.P. 2012. La producción ovina mexicana, particularidades y complejidades. Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la FESC y la SAGARPA.
- De Lucas, T.J. 2013. Situación de los productos ovinos en México y sistemas de producción. En memorias del I Foro Panamericano ovino. Querétaro, Qro. 21 de marzo del 2013.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2000. Producción ovina en el mundo y México. Editores Unidos Mexicanos.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2010. Contribución de los ovinos y los caprinos a la ganadería Mexicana y sus perspectivas. En memorias del Simposio “La contribución de los ovinos y caprinos en la producción de alimentos”. Realizado como parte de los festejos XXXI aniversario del Colegio de posgraduados 10 de septiembre. Texcoco Méx. México.
- Salvador, F.O, Pérez, R.M.A. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. I. Aspectos generales y sociales. Memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de sep.
- Salvador, F.O., Pérez, R.M.A., Castillo, H.G. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. II. Aspectos productivos y económicos. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de sep.

EVALUATION OF ACCEPTANCE TECHNOLOGY AND MANAGEMENT IN SHEEP SOCIAL FARMERS OF TLAXCALA, MÉXICO

SUMMARY

The objective of this work was to evaluate the adoption of technologies through training small farmers in 109 flocks in the State of Tlaxcala. Seventeen technologies that could solve the same number of identified issues were selected from a previous diagnosis about limiting factors of their productive systems. Farmers were trained about the objectives and benefits of the chosen technologies, The results pre and post capacitation was: breeding control 33% *vs.* 78%; flock evaluation 40% *vs.* 89%; ram and ewes pre mating evaluation 15% *vs.* 59%; male effect implementation 18% *vs.* 61%; use selenium pre breeding and at the end of gestation 35% *vs.* 96%; use selenium in lambs 58% *vs.* 99%; wormed after a lab diagnosis 38% *vs.* 90%; vaccination at the end of gestation 32% *vs.* 71%; lambing care 40% *vs.* 83; use lambing pens 2% *vs.* 11%; use feeding alternatives 15% *vs.* 84%; forage conservation 71% *vs.* 86%; parameters evaluation 4% *vs.* 39%; weaned their lambs in a programmed manner 29% *vs.* 77%; elect lambs for feed lot 18% *vs.* 60; use feed lot pens 25% *vs.* 74%; use feed lot diets 22% *vs.* 67%.

Key words: Sheep, technology, transfer, social producers.

IMPACTO DE LA APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS Y MANEJOS SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN REBAÑOS OVINOS DEL SECTOR SOCIAL EN TLAXCALA, MÉXICO

SALVADOR, F.O.*; CASTILLO, H.G.; PÉREZ, R.M.A. y DE LUCAS, T.J.

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México Carretera Cuautitlán Teoloyucan S/N, Cuautitlán Izcalli Méx. México.

* omsafl@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el impacto de la aplicación de 17 tecnologías o manejos sobre parámetros reproductivos y productivos antes y después de su aplicación. Se evaluaron 104 rebaños de productores del sector social del Estado de Tlaxcala en el Altiplano Central de México. Las tecnologías derivaron de un diagnóstico estático y se implementaron a través de capacitar a los productores. Para medir el impacto fueron considerados 4 indicadores reproductivos (fertilidad, prolificidad, sobrevivencia al destete y tasa de destete) y un manejo integral (finalización de corderos). Los resultados antes y después mostraron diferencias ($P \leq 0,05$) fueron: fertilidad (ovejas paridas de expuestas al semental) 83,0% *vs.* 93,2%, prolificidad (corderos nacidos de ovejas paridas) 1,09 *vs.* 1,14, sobrevivencia nacimiento al destete 84.5 % *vs.* 93,9% y tasa de destete (corderos destetados de ovejas expuestas al semental) 0,78 *vs.* 1.0 El número de corderos finalizados paso de 992 *vs.* 1773. Estos resultados muestran signos de mejorar la producción en rebaños del sector social y apoya la teoría de que toda propuesta de mejora se debe basar en el conocimiento de los sistemas de producción de los productores objetivo y no transferir aquellas que solo sean copia de otros lugares.

Palabras claves: Ovinos, tecnologías, productores, parámetros productivos.

INTRODUCCIÓN

Por años, en México se han implementado innumerables programas gubernamentales con objeto de mejorar la producción a productores de pequeños rumiantes, definidos como del “sector social”, con resultados nulos o muy magros, en la parte productiva y por consiguiente económica (De Lucas y Arbiza, 2000; De Lucas, 2013). Estos productores acusan serios problemas de tipo social, técnico y productivo, con objetivos no empresariales sino de ahorro y autoconsumo y en general poco eficientes, con rebaños pequeños, mal estructurados productivamente, mínima aplicación de tecnología y por ende magra productividad, además de ser presa de intermediarios al vender sus animales (De Lucas y Arbiza, 2010). No obstante esta ganadería es muy importante porque brinda empleo, alimento y recursos a estos productores que de otra forma les sería difícil obtener como lo muestran diversos estudios tanto de hace muchos años como recientes (Arbiza y de Lucas, 1980; Morlan *et al.*, 2006; Solís *et al.*, 2012). El fracaso de todos estos programas estriba principalmente en no identificar los componentes características y limitantes de sus sistemas de producción y tratar de implantar tecnologías o manejos no acordes a sus necesidades. Bajo esta premisa el gobierno del Estado de Tlaxcala ubicado en el centro del país, basándose en metodología de sistemas, a través de un diagnóstico estático determinaron las características de productores y sus sistemas de producción en pequeños rumiantes (Salvador *et al.*, 2014 a, b; Ambrocio *et al.*, 2014). A partir de aquí, a través de un proyecto piloto se transfirieron tecnologías y se evaluaron sus resultados siendo muy alentadores (Castillo *et al.*, 2014 a y b). El presente estudio es continuación de los avances sobre el impacto en indicadores productivos considerando todo el universo de los productores ovinos que están en el programa estatal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Estado de Tlaxcala, localizado en el Altiplano Central de México alrededor del paralelo 19° de latitud norte, la altitud promedio ronda los 2300 msnm, de ahí que el clima que predomina es el templado subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura anual promedio es de 14°C (1,5° a 25°C) y la precipitación media anual es de 720 mm. El estudio consistió en evaluar el impacto de 17 tecnologías implementadas en 104 productores que fueron determinadas a través de un estudio de diagnóstico (Salvador *et al.*, 2014 a y b) y la evaluación previa en una población muestral (Castillo *et al.*, 2014 b). En este estudio se consideraron 80 productores que hasta esta publicación se obtenía información. Para la evaluación se determinaron 4 indicadores

reproductivos y un productivo, que fueron fertilidad (ovejas paridas de expuestas al semental), prolificidad (corderos nacidos de ovejas paridas), sobrevivencia del nacimiento al destete (corderos muertos de nacidos hasta el destete) y tasa de destete (corderos destetados de ovejas expuestas al semental), así como el número de corderos que se llevaron a la finalización. Para el análisis se utilizó una t de student.

RESULTADOS

En la tabla 1, se presentan los resultados, como se puede apreciar, tras la implementación de las 17 tecnologías (Salvador *et al.*, 2015 en prensa) que incluyeron aspectos reproductivos, sanitarios, de alimentación y de instalaciones, se encontró que en todos los indicadores hubo mejoras substanciales. Destaca la fertilidad y la sobrevivencia del nacimiento al destete donde se obtuvo un incremento de 10 puntos porcentuales en ambos casos, estos fueron los indicadores más importantes para que se incrementara 0,22% la tasa de destete, con respecto a la prolificidad no hubo un incremento significativo ya que fue de solo 0,05%.

Tabla 1. Parámetros reproductivos antes y después de la capacitación y aplicación de manejos y tecnologías.

Parámetros	Antes	Después
Fertilidad	83.0 ± .01 % b	93.2 ± .01 % a
Prolificidad	1.09 ± .05 % b	1.14 ± .02 % a
Sobrevivencia al destete	84.5 ± .05 % b	93.9 ± .003 % a
Tasa de destete	0.78 ± .07 b	1.0 ± .03 a
Corderos finalizados por los 80 productores	992	1773

Letras diferentes en una fila indican diferencias significativas (P≤0,05)

En la misma tabla 1, se presenta un avance parcial hasta el momento de la publicación de este escrito en el impacto a nivel global de la implementación de 4 tecnologías vinculadas a la finalización de los corderos, que comprendían: destete (requisitos y parámetros), estandarización de lotes de corderos para finalización, acondicionamiento del corral de engorda y diseño e implementación de dietas para la finalización, teniendo un incremento parcial de 781 corderos.

DISCUSIÓN

Quizá el logro más importante que refleja este estudio, no es el avance en la mejora productiva de los rebaños, que evidentemente la hay como se demuestra en los resultados, sino el cambio de los productores a una

visión más empresarial y de negocio, que les permita una mejora de sus ingresos. De los resultados, dos parámetros muestran avances que se consideran muy significativos tras la aplicación de varias tecnologías y manejos en el aspecto reproductivo, el primero en el incremento de la sobrevivencia, las razones a lo que se atribuye fue a la aplicación de una serie de manejos como: programación de empadres – partos, atención de los mismos, identificación de madres y crías, suplementar al final de la gestación y aplicar selenio a las madres cuando manifiestan desarrollo de la ubre y a los corderos al nacimiento. El segundo fue la fertilidad, que se logró incrementar 10%. Estos resultados se reflejaron en la tasa de destete que se logró incrementar en un 22%, como es sabido éste parámetro es resultado de la fertilidad, más la prolificidad y la sobrevivencia de los corderos hasta el destete. Finalmente, se requiere un análisis para determinar las causas de la baja tasa de prolificidad, ya que se tuvo un incremento marginal de 0,05%, sin embargo se considera que es factible aumentarla en unos 10 a 20 puntos porcentuales, para ello se deben implementar otras tecnologías como son: revisar la estructura de los rebaños, para que la proporción de primaras no sea muy elevada, evaluar la condición corporal previo al empadre y suplementar (*flushing*) si es el caso y elegir en la medida de lo posible la mejor época de apareamiento (De Lucas, 2008 a, b y c), aunque hay tres aspectos complejos de solucionar; uno es el componente racial que es sumamente heterogéneo; otro la ausencia aunque sea básica en la selección de las corderas de reemplazo y finalmente de los sementales de considerar parámetros productivos, lo anterior basándose en el trabajo previo de diagnóstico (Salvador *et al.*, 2014 a y b) que da pauta a este estudio.

CONCLUSIONES

Estos primeros resultados en aspectos reproductivos, tras la aplicación de manejos y tecnologías derivadas de un estudio de diagnóstico de los sistemas de producción en pequeños rumiantes, muestran signos alentadores de la posibilidad de mejorar los niveles productivos de rebaños de productores del “sector social” en Tlaxcala México. También apoya la teoría de que toda propuesta de mejora se debe basar sobre el conocimiento de los sistemas de producción de los productores objetivo y no transferir aquellas que solo sean copia de otros lugares o latitudes.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Gloria Meléndez Roca, Directora de Desarrollo Rural perteneciente a la Secretaría de Fomento Agropecuario Tlaxcala, por las facilidades para la realización de éste trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ambrocio, S.J.I., Quiroz, M.M.I., Salvador, F.O., De Lucas, T.J. y Pérez, R.M.A. 2014. Caracterización de sistemas de producción caprina en el estado de Tlaxcala, México. I.- Aspectos generales y sociales. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de sep.
- Arbiza, A.S. y De Lucas, T.J. 1980. Encuesta sobre producción ovina y caprina en cuatro municipios del Estado de México. Temas selectos de ovinos No. 4. FESC UNAM.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T. J. 2014 a. Evaluación de la aceptación de tecnologías y manejos en productores del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de sep.
- Castillo, H.G., Salvador, F.O. y De Lucas, T. J. 2014 b. Impacto de la aplicación de tecnologías y manejos sobre parámetros reproductivos en rebaños del sector social en Tlaxcala, México. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España 17 a 19 de sep.
- De Lucas, T.J. 2008. Artículos a. Preparación de los carneros al empadre. b. Preparación de las ovejas al empadre y parto. c. Elección y realización de la época de empadre. En reproducción. En tecnologías para ovinocultores. Elaborado por el Sistema Producto Ovinos, apoyado por AMCO (hoy UNO) y SAGARPA. En línea en página web de UNO.
- De Lucas, T.J. 2013. Situación de los productos ovinos en México y sistemas de producción. En memorias del I Foro Panamericano ovino. Querétaro, Qro. 21 de marzo del 2013.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2000. Producción ovina en el mundo y México. Editores Unidos Mexicanos.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2010. Contribución de los ovinos y los caprinos a la ganadería Mexicana y sus perspectivas. En memorias del Simposio “La contribución de los ovinos y caprinos en la producción de alimentos”. Realizado como parte de los festejos XXXI aniversario del Colegio de posgraduados 10 de septiembre. Texcoco, Méx. México.
- Morlán, C.A.A., De Lucas, T.J. y Valdés, L.E. 2006. Caracterización de sistemas de producción de pequeños rumiantes en Venado y Villa de Arista San Luís Potosí México. En memorias de las XXXI Jornadas Científicas y X Jornadas Internacionales de Ovinotecnia y caprinotecnia. De la SEOC. Zamora España. Septiembre 20 al 22 del 2006. pp 239.
- Salvador, F.O, Pérez, R.M.A. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. I.- Aspectos generales y sociales. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de sep.

Salvador, F.O., Pérez, R.M.A., Castillo, H.G. y De Lucas, T.J. 2014. Caracterización de sistemas de producción ovina en el estado de Tlaxcala, México. II. Aspectos productivos y económicos. En memorias del XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ourense España del 17 a 19 de sep.

Solís, F.S., Pérez, R.M.A., Salvador, F.O. y De Lucas, T.J. 2012. Caracterización de sistemas de producción ovina en San Juan Cuauhtémoc, Tlahuapan Puebla. I. Aspectos generales y sociales. En Memorias del II foro internacional de ciencias e innovación tecnológica. Colima, Colima, México 26 al 28 de septiembre del 2012.

IMPACT OF THE APPLICATION OF TECHNOLOGIES AND MANAGEMENT IN PRODUCTIVE PARAMETERS IN SHEEP FLOCKS OF THE SOCIAL SECTOR IN TLAXCALA, MEXICO

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the impact of technologies in small farmers in 104 flocks in the State of Tlaxcala México. A previous diagnose of the flocks was made to determine the status of their productive parameters. Farmers were trained about the different technologies for improving their production. The effect of these technologies was evaluated before and after implementation. The results were significant ($P \leq 0,05$) as follows: fertility (lambd ewes after exposed to the ram) 83,0% *vs.* 93,2%, prolificacy (number of lambs born to lambd ewes) 1,09 *vs.* 1,14, survival (dead lambs before weaning) 84,5% *vs.* 93,9% and rate of weaning (weaned lambs of ewes exposed to the ram) 0,78 *vs.* 1.0. Finishing lambs 992 *vs.* 1773.

Key words: Sheep, transfer technologies, productive parameters.

EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÓMICAS DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN CAPRINA EN EL ESTADO DE TLAXCALA, MÉXICO

PÉREZ, R.M.A.*; QUIROZ, M.M.I.**; AMBROSIO, S.J.I.; DE LUCAS, T.J. y SALVADOR, F.O.***

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México, Carretera Cuautitlán Teoloyucan S/N, Cuautitlán Izcalli Méx. México.

* maprazo@unam.mx; ** tronj@unam.mx; *** omsafl@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo fue evaluar características socioeconómicas en los sistemas de producción caprina en Tlaxcala, México. Se realizó una revisión documental y una encuesta a 116 productores. La evaluación de la información se realizó mediante la metodología multivariada del análisis de componentes principales y análisis discriminante. En los resultados se observaron diferencias entre sistemas en las características evaluadas ($P < 0.05$), en el sistema mixto las características de mayor valor fueron las relacionadas con la edad del productor y su antigüedad como productor caprino, en el sistema estabulado las características que tuvieron un mayor valor fueron los integrantes de la familia, nivel de escolaridad y cantidad de tierras sembradas. En relación al análisis de componentes principales, los primeros tres componentes principales explican el 61 y 66% de la variabilidad total en los sistemas mixtos y estabulados respectivamente. En los mixtos las características de mayor valor fueron ingresos de la caprinocultura, tamaño del predio, antigüedad y edad del propietario; mientras que las tres características relacionadas con el uso de mano de obra ya sea familiar o contratada y con el nivel de escolaridad tuvieron valores de 0.400 y con signo negativo. En los sistemas estabulados, las características que presentaron mayor valor y con signo positivo fueron antigüedad, edad del productor, ingresos y superficie sembrada.

Palabras clave: Componentes principales, sistemas de producción, parámetros socioeconómicos.

INTRODUCCIÓN

La caprinocultura mexicana ha venido cambiando en los últimos años, en la actualidad se distinguen claramente tres tipos de productores. El primero de ellos lo constituyen empresarios que tienen objetivos claros de producción, principalmente leche y pie de cría, con rebaños grandes y con diversas aplicaciones de tecnología (De Lucas y Arbiza, 2010). El segundo corresponde a lo que algunos autores han clasificado como del sector social, que representa el mayor porcentaje de los productores caprinos del país (Cuellar *et al.*, 2012), con objetivos en la producción de ahorro y autoconsumo (Rocha *et al.*, 1995). El tercer tipo, al que se denomina de transición, corresponde a productores del sector social que van evolucionando hacia el tipo empresarial, porque ya aplican algunas mejoras y van definiendo sus objetivos de producción (Cruz *et al.*, 2010). Indistintamente del tipo de productores las formas de producción incluyen sistemas estabulados o mixtos básicamente con pastoreo. Con relación a los productores del sector social, los diferentes estudios que se han realizado, son principalmente descriptivos, lo cual permite conocer limitaciones de los sistemas, pero sin distinción de cuáles pueden ser más importantes. Por lo que en el presente estudio se pretende identificar las características más importantes en sistemas estabulados y mixtos caprinos que se desarrollan en el estado de Tlaxcala.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Estado de Tlaxcala, localizado en el Altiplano Central de México. Para establecer componentes, características, interacciones y limitantes de los sistemas, se realizó un diagnóstico estático, a través de encuestas y entrevistas a 115 productores pertenecientes al sector social y que se ubicaron en sistemas estabulados o mixtos (encierro nocturno con pastoreo diurno). Las encuestas comprendieron preguntas que incluyeron: aspectos sociales, productivos, reproductivos, nutricionales, sanitarios, de instalaciones, socioeconómicos y de comercialización. Para el presente trabajo sólo se consideraron los aspectos socioeconómicos. El universo de la muestra comprendió a productores que se han integrado a un programa de asistencia técnica estatal de gobierno. Las características socioeconómicas que se evaluaron fueron: 1) integrantes de la familia, 2) número de integrantes de la familia que trabajan con las cabras, 3) edad del propietario, 4) escolaridad, 5) antigüedad en la caprinocultura, 6) trabajadores contratados, 7) ingresos provenientes de las cabras, 8) tamaño del predio donde se localizan las cabras y 9) hectáreas sembradas. Para la evaluación de los datos se utilizó el análisis de componentes principales y el análisis discriminante (SAS, 1998).

RESULTADOS

En la tabla 1, se dan los promedios y desviaciones estándar de las nueve variables utilizadas, como se puede observar, únicamente en cinco de las características evaluadas hubo diferencias entre los dos sistemas de producción ($P < 0,05$). En el sistema mixto las características de mayor valor fueron las relacionadas con la edad del productor y su antigüedad como productor caprino, mientras que en el sistema estabulado las características más importantes fueron los integrantes de la familia que participan en las labores de la unidad de producción, el nivel de escolaridad y la cantidad de tierras destinadas al cultivo. Con relación al análisis de componentes principales, los tres primeros explican el 61 y 66% de la variabilidad total en los sistemas mixtos y sistemas estabulados respectivamente (datos no mostrados). Como se observa en la tabla 2, en los sistemas mixtos cuatro características mostraron valores superiores a +0,5 en el primer componente. Éstas fueron: ingresos de la caprinocultura, tamaño del predio, antigüedad y edad del propietario; mientras que las tres características relacionadas con el uso de mano de obra ya sea familiar o contratada y con el nivel de escolaridad tuvieron valores de 0,4 y con signo negativo. Sin embargo en los sistemas estabulados, cuatro características tuvieron un valor superior a +0,6 en el primer componente. Dos de ellas se relacionan con tiempo y dos con la disponibilidad de cultivos y espacio, en ésta última, a diferencia de los sistemas mixtos, la característica “hectáreas sembradas” tuvo un valor importante en el primer componente.

Tabla 1. Medias y desviación estándar de características socioeconómicas en sistemas caprinos mixtos y estabulados.

Característica	Sistema Mixto			Sistema Estabulado			p
	Promedio	D.S.	N	Promedio	D.S.	N	
Integrantes de la familia	4,06	1,63	66	4,71	2,11	49	ns
Trabajadores de la familia	2,12	1,06	66	3,18	1,87	49	0,05
Edad del propietario	46,85	154,00	66	36,12	16,70	49	0,05
Escolaridad	2,29	0,74	66	2,78	0,90	49	0,05
Antigüedad en la producción	16,96	14,59	66	11,02	7,74	49	0,05
Trabajadores contratados	1,80	0,83	66	1,63	,528	49	ns
Ingresos por la caprinocultura (%)	46,29	32,01	66	45,20	21,21	49	ns
Tamaño del Predio m ²	1544,30	4067,84	66	1840,8	3544,73	49	ns
Terreno de cultivo (ha)	3,20	3,07	66	4,80	5,19	49	0.05

DS Desviación estándar; *ns* no significativo

Tabla 2. Componentes principales de la actividad primordial de productores caprinos del Estado de Tlaxcala.

Característica	Componentes principales					
	Sistema Mixto			Sistema Estabulado		
	1	2	3	1	2	3
Integrantes de la familia	-0,430	0,681	0,066	0,240	0,835	-0,007
Trabajadores familiares	-0,465	0,711	0,178	0,148	0,874	-0,051
Edad del propietario	0,710	-0,140	0,487	0,659	-0,441	0,393
Escolaridad	-0,492	0,210	-0,241	-0,251	0,434	-0,007
Antigüedad	0,673	0,215	-0,096	0,612	-0,112	-0,402
Trabajadores contratados	-0,497	-0,529	0,476	-0,610	-0,033	0,435
Ingresos de la caprinocultura	0,654	0,389	-0,438	0,682	-0,191	-0,442
Tamaño del predio	0,506	0,194	0,325	0,428	0,031	0,813
Hectáreas sembradas	0,119	0,559	0,586	0,762	0,310	0,280

DISCUSIÓN

Los resultados del análisis destacan varios puntos importantes, por ejemplo, en los sistemas mixtos, destaca una mayor tradición en la crianza de las cabras por la antigüedad del productor en la caprinocultura y una mayor participación o dependencia del productor de las mismas, para que la producción de cabras aporte mayores ingresos a su economía. Probablemente esto obedece, en parte, al menor porcentaje que la alimentación representa en los costos de producción en este sistema, dado que los productores pastorean y lo llega hacer en áreas comunales o en rastrojeras, lo que coincide con el estudio de Cruz *et al.* (2010), en el que los productores utilizan el pastoreo, como una importante alternativa de alimentación; pero también influye probablemente la menor participación de los integrantes de la familia en el proceso de producción. Por otra parte, en los sistemas estabulados, los altos costos de la alimentación que tiene este sistema obliga al productor a la búsqueda de una mayor cantidad de tierras cultivadas como solución para reducir sus costes. También existe la posibilidad de que algunos productores, que tenían mayor disponibilidad de tierras cultivadas, han decidido utilizar una parte de sus cultivos para la producción animal, como ha sido observado en otros estudios (Bosman *et al.*, 1999).

CONCLUSIONES

Este estudio contribuye a establecer las características que explican la gran variabilidad en los sistemas caprinos estabulados y los sistemas mixtos del Estado de Tlaxcala. Servirá de base para plantear estrategias que intenten mejorar la producción, así como opciones de comercialización. Ya que estos productores han aceptado participar en un programa de extensión gubernamental, los resultados del estudio servirán para evaluar los avances conseguidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bosman, H.G., Moll, H.A.J., Udo, H.M.J. 1999. Measuring and interpreting the benefits of goat keeping in tropical farm systems. *Agricultural Systems*, 53 (4): 349-372.
- Cruz, P.T., Pérez, R.M.Á., Salvador, R.F.O. y De Lucas, T.J. 2010. Caracterización de sistemas de producción caprina en municipios del centro de México. II. Aspectos productivos y económicos. En memorias de XXXIV Jornadas Científicas y XIII Jornadas Internacionales de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Valladolid, España 22-24, septiembre.
- Cuellar, O.J.A., Tórtora, P.J., Trejo, G.A. y Román, R.P. 2012. La producción caprina mexicana. Particularidades y complejidades. Editado por la Universidad Nacional Autónoma de México a través de la FESC y la SAGARPA.
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. 2010. Contribución de los ovinos y los caprinos a la ganadería Mexicana y sus perspectivas. En memorias del Simposio "La contribución de los ovinos y caprinos en la producción de alimentos". Realizado como parte de los festejos XXXI aniversario del Colegio de posgraduados 10 de septiembre. Texcoco Méx. México.
- Rocha, S.A., Frías, H.J.T. y Valencia, P.M. 1995. Diagnóstico ejidal de la caprinocultura en ocho comunidades del centro de Guanajuato. En Memorias V Reunión Nacional sobre Caprinocultura. AMPCA-Zacatecas, 189-190.

SOCIO-ECONOMIC CHARACTERISTICS OF GOAT PRODUCTION SYSTEMS IN THE STATE OF TLAXCALA, MEXICO

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate socioeconomic characteristics in goat production systems Tlaxcala, Mexico. A literature review and a survey of 116 farmers were conducted. The evaluation of information was performed by multivariate methodology of principal component analysis and discriminant analysis. The results differences between systems in the evaluated characteristics ($P < 0.05$) in the mixed system the characteristics of higher value observed were related to the age of the farmer and his seniority as a producer goats, stall feeding condition system the characteristics that had greater value were the members of the family, education level and amount of land sown. In relation to principal component analysis, the first three principal components explain 61 and 66% of the total variability in mixed systems and stall feeding condition systems respectively. In mixed systems characteristics were higher value goat production income, farm size, seniority and age of the owner, while the three characteristics related to the use of labor either family or hired and education level had values of 0.400 and a negative sign. In stall feeding condition systems, characteristics that had greater value and positive sign were old, old producer, income and land sown.

Key words: Principal components, production systems, socio-economic parameters.



SEOC 2015

REPRODUCCIÓN



EVOLUCIÓN DE LA TEMPERATURA PERINEAL EN RESPUESTA A LA SINCRONIZACIÓN DEL CELO EN OVEJAS DE RAZA CHURRA

BODAS, R.*; TABERNERO DE PAZ, M.J.; RODRÍGUEZ, L.A.; POSADO, R. y GARCÍA-GARCÍA, J.J.

Instituto Tecnológico Agrario (ITACyL) - Subdirección de Investigación y Tecnología. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León.

* bodrodra@itacyl.es

RESUMEN

Se estudió el efecto de la sincronización del celo sobre la temperatura perineal (zonas bajo la cola, perianal y perivulvar) en ovejas de raza churra tomando fotografías de infrarrojos a 14 ovejas sin control del ciclo (OMN) y a 40 ovejas (OIA) y 10 corderas (CIA) a las que se sincronizó el celo (día 1, introducción de esponjas; día 14, retirada de esponjas; día 16, inseminación artificial cervical) en el mes de junio. Los días 1 y 14 no se observaron diferencias en la temperatura perineal entre grupos de animales ($P > 0,10$). El día 16 la temperatura de la zona bajo la cola y perianal tendió a ser mayor en las corderas (CIA) que en las ovejas (OMN y OIA) ($P < 0,10$), la temperatura de la zona perivulvar fue significativamente mayor en las corderas (CIA) que en las ovejas sincronizadas (OIA), y en éstas mayor que en el grupo control (OMN) ($P < 0,001$). Por tanto, la inducción del celo da lugar a un incremento de la temperatura perineal, especialmente en la zona perivulvar y de forma más evidente en corderas, detectable mediante fotografía de infrarrojos, abriendo la puerta a futuras aplicaciones de esta tecnología.

Palabras clave: Termografía, infrarrojo, ciclo estral, ambiente.

INTRODUCCIÓN

La termografía por infrarrojos es una técnica no invasiva que permite la medición de la temperatura de una superficie sin necesidad de contacto, generando imágenes que muestran la cantidad de calor emitida por el cuerpo o la superficie en cuestión (Scholari, 2010). Se ha sugerido que esta técnica podría servir para la detección temprana de mamitis clínicas en ganado vacuno (Colak *et al.*, 2008; Hovinen *et al.*, 2008). Esta posibilidad ha sido también valorada en ganado ovino, habiendo opiniones a favor (Martins *et al.*, 2013) y en contra (Castro-Costa *et al.*, 2014); la raza en estudio puede ser un elemento determinante de su utilidad.

Por otra parte, estudios llevados a cabo con ganado bovino (Hurnik *et al.*, 1985) y porcino (Scolari, 2010) han suscitado el interés de esta técnica para predecir el comportamiento reproductivo y determinar el momento de la ovulación y de cubrición, ya que parecen estar correlacionados con un aumento de la temperatura perivulvar. El único estudio en ganado ovino (Stelletta *et al.*, 2012) señala una mayor temperatura perivulvar en ovejas con celo inducido frente a las que estaban en anoestro (36,9 frente a 35,4°C).

Por consiguiente, se plantea este trabajo para determinar cómo influye el estado del ciclo estral (con sincronización del celo) sobre la temperatura perineal (zonas bajo la cola, perianal y perivulvar) en ovejas de raza churra.

MATERIAL Y MÉTODOS

La prueba se llevó a cabo en las instalaciones del Centro del Formación Agraria 'Viñalta' de Palencia, que dispone de un rebaño de ovejas de raza churra para producción de leche y lechazos. Se utilizaron 64 ovejas de raza churra no gestantes ni lactantes, divididas en 3 grupos: 14 ovejas en un lote que no recibió tratamiento hormonal para sincronizar el celo (OMN) y que sirvieron como grupo control, y dos grupos de animales, uno compuesto de 40 ovejas (OIA) y otro de 10 corderas (CIA), a los que se le indujo el celo en el mes de junio conforme al siguiente protocolo (sólo para los grupos OIA y CIA):

- Día 1: introducción de las esponjas (acetato de flugestona 20 mg, Chrono-gest, MSD Animal Health, S.L., España) a las 9:00.
- Día 14: retirada de las esponjas e inyección de 500 UI de eCG (Folligon, MSD Animal Health) a las 8:00.
- Día 16: inseminación artificial por vía vaginal (cervical), a las 13:00.

Las fotografías del perineo de los animales se tomaron inmediatamente después de la entrada de los animales a la sala de ordeño y antes de realizar cualquier otra manipulación (Figura 1) los días 14 y 16. Además, se tomaron fotografías de las ovejas el día 1. Para la toma de las fotografías se utilizó una cámara de infrarrojos (FLIR T335, FLIR Systems AB, Suecia), colocada sobre un soporte fijo y a una distancia de 1 m de los animales. La temperatura ambiente se registró de forma continua utilizando un termómetro (MicroLite, Fourtec, EUA). El diagnóstico de gestación se llevó a cabo mediante ecografía abdominal el día 121 (tras la introducción de las esponjas).

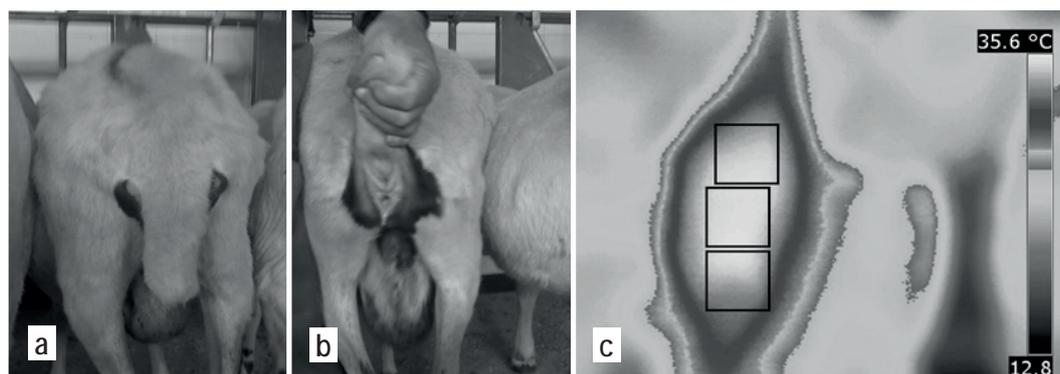


Figura 1. a) Oveja en la sala de ordeño; b) retirando la cola para realizar la fotografía de infrarrojos (c), sobre la cual se seleccionan 3 áreas (bajo la cola, perianal y perivulvar).

Las imágenes fueron procesadas utilizando el programa correspondiente (FLIR Quick Report 1.2, FLIR Systems). Después de corregir para la temperatura ambiente y la emisividad (0,98, conforme a lo sugerido por el fabricante del software y por Hovinen *et al.*, 2008), se seleccionaron 3 áreas del mismo tamaño (50×50 píxeles) dentro de cada fotografía (Figura 1c), una por cada zona (bajo la cola, perianal y perivulvar), de las cuales se midió la temperatura media de los puntos que conformaban cada cuadrado.

Los datos obtenidos para cada zona medida (y para la media de las 3 zonas) y para cada día fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía, con el tipo de animal (OMN, OIA, CIA) como fuente de variación, y utilizando el test de la diferencia mínima significativa para separar las medias cuando $P < 0,05$ (SPSS 16.0 para Windows, IBM Corp., Nueva York, EUA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los datos recogidos el día 1 no se observaron diferencias significativas ($P > 0,10$) entre los 2 lotes de ovejas (Tabla 1). De forma análoga, el día

14 tampoco se observaron diferencias significativas ($P > 0,10$) entre los 3 lotes de animales (2 de ovejas y 1 de corderas) estudiados. El día 16, sin embargo, sí se observó una tendencia a la significación del efecto del tipo de animal sobre la temperatura bajo la cola y perianal ($P < 0,10$) y un efecto estadísticamente significativo sobre la temperatura de la zona perivulvar ($P < 0,001$) y perineal en su conjunto ($P < 0,05$). Así, la temperatura de la zona bajo la cola y perianal tendió a ser mayor en las corderas (CIA) que en las ovejas (OIA, OMN). Además, la temperatura de la zona perivulvar fue significativamente mayor en las ovejas a las que se había inducido el celo (OIA) que en las del grupo control (OMN) y aún mayor en las corderas (CIA) que en las ovejas ($P < 0,001$). Finalmente, la temperatura de la zona perineal en su conjunto fue mayor en las corderas (CIA) que en las ovejas del grupo control (OMN), mostrando las ovejas con sincronización del celo valores intermedios.

Si bien no se observaron diferencias significativas entre grupos, el día 14 los animales del grupo OMN mostraron siempre un valor de temperatura en todas las zonas numéricamente mayor que el de los animales de los grupos OIA y CIA. Dado que las fotografías se tomaron antes de realizar cualquier manejo, es posible que la presencia de la esponja, así como la consecuente retención de líquido a nivel vaginal hayan contribuido a este fenómeno sin relevancia estadística.

El día 16 (día de la inseminación artificial) la temperatura tendió a ser 0,7 y 0,6 °C más elevada en las zonas bajo la cola y perianal en el grupo CIA que en el grupo OMN. Asimismo, la temperatura en la zona perivulvar fue 0,5 y 1,1 °C más elevada en los animales de los grupos OIA y CIA, respectivamente, que en el grupo control (OMN). Como consecuencia, la temperatura perineal fue 0,8 °C más elevada en las corderas que en las ovejas del grupo control, situándose las ovejas del grupo OIA en una posición intermedia. Estos resultados parecen concordar con las observaciones de Stelletta *et al.* (2012), si bien estos autores señalaron diferencias de temperatura debidas al celo mayores (1,4°C) que las observadas en el presente estudio, lo cual podría ser debido a la raza estudiada, además de a la dosis y tipo de fármacos utilizados para sincronizar el celo.

Pese a que el software de análisis de las imágenes establece una corrección en función de la temperatura ambiente (media de 16,8, 19,4 y 26,8°C en el local donde se tomaban las fotografías los días 1, 14 y 16, respectivamente), se puede observar que la temperatura media en todos los grupos aumenta numéricamente a medida que avanzan los días. Aunque el aumento de temperatura ambiente puede dar lugar a ligeras elevaciones de la temperatura corporal, esta pareció no enmascarar el aumento de temperatura asociado al celo.

Tabla 1. Valores medios de temperatura de cada zona en cada día de muestreo (1, introducción de esponjas; 14, retirada de esponjas; 16, inseminación cervical) para cada grupo de animales: ovejas sin sincronización de celo (OMN) y ovejas (OIA) y corderas (CIA) con sincronización de celo.

Zona	Día	OMN	OIA	CIA	d.e.r.	Nivel-P
Bajo cola	1	35,3	35,4	-	1,13	n.s.
	14	36,2	35,9	35,8	1,25	n.s.
	16	36,9	37,1	37,6	0,67	t
Perianal	1	35,9	35,9	-	0,94	n.s.
	14	36,6	36,3	36,4	1,15	n.s.
	16	37,3	37,5	37,9	0,57	t
Perivulvar	1	34,9	35,1	-	1,07	n.s.
	14	36,1	35,5	35,9	1,29	n.s.
	16	36,7 ^a	37,2 ^b	37,8 ^c	0,60	***
Conjunto	1	35,4	35,5	-	0,97	n.s.
	14	36,3	35,9	36,0	1,20	n.s.
	16	37,0 ^a	37,3 ^{ab}	37,8 ^b	0,59	*

d.e.r.: desviación estándar residual.

*Nivel-P: ns=P>0,10; t=P<0,10; *=P<0,05; ***=P<0,001.*

CONCLUSIONES

La inducción del celo conlleva un aumento de la temperatura de la zona perivulvar y, en consecuencia de toda la zona perineal de las ovejas. Este incremento de temperatura es especialmente observable en corderas. Pese al efecto de la temperatura ambiental sobre la temperatura corporal de los animales, puede plantearse la utilización de una técnica no invasiva de medición de la temperatura, como es la fotografía mediante infrarrojos, para hacer un seguimiento del ciclo estral en animales no sincronizados, así como abrir la puerta a la exploración de nuevas aplicaciones (relación con determinados estados patológicos asociados a variaciones en la temperatura corporal de los animales).

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Centro de Formación Agraria ‘Viñalta’ de Palencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Castro-Costa, A., Caja, G., Salama, A.A.K., Rovai, M., Flores, C., Aguiló, J., 2014. Thermographic variation of the udder of dairy ewes in early lactation and following an *Escherichia coli* endotoxin intramammary challenge in late lactation. *J. Dairy Sci.* 97, 1377–1387.
- Colak, A., Polat, B., Okumus, Z., Kaya, M., Yanmaz, L.E., Hayirli, A., 2008. Short Communication: Early Detection of Mastitis Using Infrared Thermography in Dairy Cows¹. *J. Dairy Sci.* 91, 4244-4248.
- Hovinen, M., Siivonen, J., Taponen, S., Hänninen, L., Pastell, M., Aisla, A.M., Pyörälä, S., 2008. Detection of Clinical Mastitis with the Help of a Thermal Camera. *J. Dairy Sci.* 91, 4592-4598.
- Hurnik, J., Webster, A., Deboer, S., 1985. An investigation of skin temperature differentials in relation to estrus in dairy cattle using a thermal infrared scanning technique. *J. Anim. Sci.* 61, 1095-1102.
- Martins, R.F.S., Do Prado Paim, T., De Abreu Cardoso, C., Stéfano Lima Dallago, B., De Melo, C.B., Louvandini, H., Mcmanus, C., 2013. Mastitis detection in sheep by infrared thermography. *Res. Vet. Sci.* 94, 722-724.
- Scolari, S.C., 2010. Investigation of skin temperature differentials in relation to estrus and ovulation in sows using a thermal infrared scanning technique (MSc. Thesis). University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana-Champaign, USA.
- Stelletta, C., Giansella, M., Vencato, J., Fiore, E., Morgante, M., 2012. Thermographic applications in veterinary medicine. En: Prakash, R.V. (Ed.), *Infrared Thermography*. In Tech., Croatia.

PERINEAL TEMPERATURE EVOLUTION IN RESPONSE TO ESTRUS SYNCHRONIZATION IN CHURRA SHEEP

SUMMARY

The objective was to study the effect of Churra sheep estrous synchronization on perineal temperature (under the tail, perianal and perivulvar zones). Thermal images were taken from 14 unsynchronized ewes (OMN), and 40 ewes (OIA) and 10 young ewes (CIA) under an estrus synchronization programme (day 1, introduction of intravaginal sponges; day 14, sponges withdrawn; day 16, cervical artificial insemination). No differences in perineal temperature were observed on days 1 and 14 ($P>0.10$). On day 16, under the tail and perianal temperature tended to be higher in young synchronized (CIA) than in ewes (OIA, OMN) ($P<0.10$), perivulvar temperature was higher in young synchronized (CIA) than in synchronized ewes (OIA), and higher in the latter than in unsynchronized ewes (OMN) ($P<0.001$). Therefore, estrus synchronization increases perineal temperature, and this fact is detectable by infrared thermography, which opens the door to future applications of this technology.

Key words: thermograph, infrared, estrous cycle, environment.

GONZÁLEZ, L.S.*; CASTILLO, H.L.**; SALVADOR, F.O.***;
PÉREZ, R.M.A.**** y DE LUCAS, T.J.*****

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México Carretera Cuautitlán Teoloyucan S/N, Cuautitlán Izcalli Méx. México.

* san_dy_sam@hotmail.com; ** laumvz@icloud.com;

*** omsafl@hotmail.com; **** maprazo@unam.mx; ***** tronj@unam.mx

RESUMEN

Este trabajo se ha realizado con objeto de evaluar la interacción de ovejas primalas con los sementales al inicio del empadre y durante un ciclo de 16 días. Dos machos reproductores fueron sujetos con una cuerda (5 metros de longitud) a un par de estacas, guardando una separación entre ellos de 2 m, con el objeto de que 57 ovejas primalas al inicio del empadre, tuvieran la posibilidad de elegir entre uno u otro semental. Se establecieron cuatro días de observación con intervalos de 4 días y con dos periodos de 9:30 a 11:30 h y de 15:30 a 17:30 h. Se han evaluado el número de interacciones que presentaron las ovejas con cada semental. Con los datos se ha generado una tabla de contingencia y se analizaron mediante la prueba de X^2 . Se encontró que en el primer día solo interactuaron 59,6% con el carnero 1 y 50,8% de las ovejas con el carnero 2 ($P>0,05$) y al final 87,7% y 94,7% respectivamente, no habiendo diferencias ($P>0,05$). En cuanto a la categoría de las interacciones el 72,3% del morueco 1 y 77,2% del morueco 2 fueron de tipo 1, no existiendo diferencias ($P>0,05$). El resto se repartió en las otras categorías.

Palabras clave: Etología, comportamiento, interacción, atracción.

INTRODUCCIÓN

Las relaciones entre los individuos de un rebaño, obedecen a una serie de comportamientos o conductas que se basan en jerarquías y dominancia de unos sobre otros (Lynch *et al.*, 1992). En corderos de cebo se ha documentado que cuando se conforman nuevos rebaños se dan una serie de interacciones a lo largo del periodo que incluye ajustes que van generando estrés en los corderos manifestado por agresiones y estereotipias (Aparicio *et al.*, 2011), pero también se han observado alteraciones en animales estabulados (María y Miranda, 2009; Miranda *et al.*, 2011). En el empadre se integran los machos reproductores al rebaño y no está claro cómo se establecen las interacciones macho/hembra, si los machos imponen su dominancia y jerarquía y eligen y aparean posteriormente las ovejas que quieren, o son las ovejas las que eligen a los carneros. La conducta de los carneros en el apareamiento ha sido estudiada por diversos investigadores (Fowler, 1984; Kilgour, 1985) y entre otras cosas se ha encontrado que el tiempo de permanencia de las ovejas alrededor del carnero depende en buena medida de su movimiento continuo o no, sea por la búsqueda de hembras en estro o por las peleas que generan con los otros carneros. Hay evidencias de que los machos eligen las hembras con que se aparean durante el empadre y puede ser solo con un determinado macho como lo señalan Ortiz *et al.* (2002). Pero también se ha observado que determinadas ovejas le son más atractivas a los machos que otras (Tilbrook y Cameron, 1984), lo que no está claro, es si los machos le son atractivos a las hembras y si éstas los eligen, por ello el objetivo de este estudio fue determinar cómo reaccionaban hembras primaras al inicio del empadre ante la presencia de los machos sin que estos pudieran desplazarse.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en una unidad de producción destinada a la producción y engorda de corderos para abasto, ubicada en el Altiplano Central de México. En un corral destinado para reproducción, en el mes de noviembre y mitad de diciembre, se colocaron dos machos adultos sementales de la raza *Katahdin*, a los cuales se les restringió su movimiento a través de una cuerda que tenía una extensión de 5 m, la cual estaba sujeta a un arnés en el pecho y el otro extremo a una estaca; entre el perímetro de un carnero y otro había una distancia de 2 m, lo que impedía que estuvieran en contacto. Una vez sujetos, se integraron 57 ovejas primaras de pelo identificadas que iniciaban el empadre. Todos los animales disponían de sombra, alimento y agua *ad libitum*. Para la evaluación se establecieron cuatro observaciones en las que se introdujeron los carneros: la primera al inicio del empadre

y las siguientes se realizaron cada 4 días para completar un ciclo de 16 días. Se establecieron dos periodos de observación a las 9:30 a 11:30 y de 15:30 a 17:30. Cuando una oveja se acercaba al semental, se empezaba un registro de sus conductas, con lo cual se estableció el tipo de comportamiento. Se contabilizaron el número de hembras que establecieron relación con cada carnero, si sólo lo hacían con uno o con los dos y el número de interacciones por oveja y por carnero. Se establecieron 5 categorías de interacción de las ovejas con los machos, considerando el número de interacciones: categoría 1: 1 a 3, categoría 2: 4 a 6, categoría 3: 7 a 9, categoría 4: 10 a 12 y categoría 5: 13 o más. Dichos grados de interacción de las hembras se pueden traducir en grados de atracción de los machos. También se contabilizaron las ovejas que repitieron el acercamiento con los machos y las que tuvieron un primer acercamiento o que eran “nuevas” con los carneros. Con los datos se generó una tabla de contingencia y se analizaron mediante una prueba de X^2 usando el SAS (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestra el comportamiento de los 4 días de observación en el número total de ovejas que tuvieron contacto con cada carnero, las que repitieron y las que fueron nuevas, así como las que fueron montadas.

Tabla 1. Total de hembras que estuvieron en contacto con los carneros

Observación	Carnero 1						Carnero 2					
	Total hembras en contacto		Hembras que repiten		Nuevas		Total hembras en contacto		Hembras que repiten		Nuevas	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Día 1	34	59,6					29	50,8				
Día 2	24	42,1	16	66,6	8	33,3	11	19,2	7	63,6	4	36,3
Día 3	40	70,1	32	80,0	8	20,0	43	75,4	28	65,1	15	34,8
Día 4	39	68,4	36	92,3	3	7,6	40	70,1	35	87,5	5	12,5
Total de ovejas montadas	14	25,0					14	25,0				
Total de ovejas que interactuaron	50	87,7					54	94,7				

Se observa en el día uno al inicio del empadre con el carnero 1 que se aproximaron el 59,6% de las hembras y con el semental 2 el 50,8% ($P>0,05$), en las siguientes observaciones nuevas ovejas interactuaron con los machos, pero como se observa, se requirió de un ciclo para que el 87,7% tuvieran contacto con el semental 1 y con el 2, el 94,7%;

salvo una oveja, todas interactuaron con ambos. El 84,2% de las ovejas (48 ovejas) tuvieron al menos una interacción con los dos carneros, el resto (8 ovejas) solo lo hicieron con alguno de los dos, correspondiendo al carnero 2 el que más tuvo con 6. Un aspecto interesante de este estudio es que fueron las ovejas quienes establecieron alguna relación con los machos al ser ellas quienes se acercaron a ellos, mostraran o no conducta sexual de monta. Esto puede explicarse de dos maneras, la primera como parte del establecimiento de orden social en el rebaño al entrar nuevos individuos o también en parte por la inexperiencia sexual de las ovejas primíparas que mostraron signos relacionados con el estro, como fue la monta, ya que nunca habían estado en contacto con carneros, se ha encontrado que el temperamento y la falta de experiencia sexual y/o la edad pueden afectar el comportamiento sexual de las ovejas (Gelez *et al.*, 2003).

Los trabajos sobre interacciones entre machos y hembras se basan fundamentalmente en la parte sexual, por ejemplo Beach (1976) o Hafez (citado por Tilbrook y Cameron, 1984) hablan de la atractividad como una serie de estímulos de la hembra ante respuestas sexuales de los machos o del “valor excitatorio” de las hembras hacia los machos, lo interesante de éste último autor es el hecho de que dicho valor está relacionado con factores tales como la edad, raza, peso vivo, tamaño, color de la cara y el vellón, la apariencia general y características de la lana de la oveja. Las preguntas son varias, por ejemplo qué factores influyen en el grado de “atractividad” de las hembras y si son los mismos que influyen en el grado de atractividad del carnero, no estando en estro o si solo es parte de la integración del rebaño ante nuevos miembros.

En la tabla 2, se presenta la calificación total de las interacciones de acuerdo a su categoría. Al revisar los resultados generales resalta que en los dos carneros las interacciones se ubican en la categoría 1, lo que podría indicar aspectos de interacción normales dentro del rebaño como forma de integración.

Tabla 2. Total de interacciones de las hembras y categoría de las mismas por carnero.

Categoría	Carnero 1				Carnero 2			
	Total interacciones	%	Montadas	%	Total interacciones	%	Montadas	%
5	2	1,5	1	7,1	3	2,4	2	14,2
4	5	3,6	3	21,4	3	2,4	3	21,4
3	5	3,6	1	7,1	4	3,3	2	14,2
2	26	19,0	4	28,5	18	14,6	1	7,1
1	99	72,3	5	42,8	95	77,2	6	42,8
Total	137		14		123		14	

Respecto a las 21 ovejas montadas por los dos carneros, 6 se ubicaron en categoría 1, que podrían considerarse las de menor interacción, las demás pueden ser parte de algunas de las conductas del cortejo hasta la monta. Por el momento este estudio enfatiza en el grado de interacción de las ovejas con los carneros, aunque falta determinar los factores que las provocan, por ejemplo establecer si las interacciones son mejores con determinados tipos de animales, como razas, edad, etc. y retomar el comportamiento en libertad en áreas confinadas de estabulación.

CONCLUSIONES

Este estudio contribuye al conocimiento de las relaciones entre carneros y ovejas primarias durante el periodo reproductivo, con especial interés en las interacciones que la hembra establece con el carnero cuando son ellas la que tienen la opción de elegir.

BIBLIOGRAFÍA

- Aparicio, M.A., García, O., Vargas, J.D., Robledo, J., González, F., Aceituno, O. y López, F. 2011, Patrón comportamental de corderos merinos en cebo, SEOC, 287-290.
- Beach, F.A. 1976, Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals, *Hormones and behavior* 7, 105-138.
- Fowler, D.G. 1984. Reproductive Behaviour of Rams. *Reproduction in Sheep*. P. 39-46.
- Gelez, H., Lindsay, D.R., Blache, D., Martin, G.B., Fabre-Nys, C. 2003. Temperament and sexual experience affect female sexual behaviour in sheep. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 84, 81–87.
- Kilgour, R.J. 1985. Mating behaviour of rams in pens. *Australian Journal Exp. Agric.* 25: 398:305.
- Lynch, J.J., Hinch, G.N. and Adams, D.B. 1992-. The behaviour of sheep. Biological principles and implications for production. CAB International, CSIRO, Australia.
- María Levrino G.A. y Miranda De La Lama, G. 2009. Aspectos de bienestar animal en la especie ovina. Capítulo 4. De Ovinotecnia (Producción y economía en la especie ovina. Homenaje al profesor Isidro Sierra Alfranca. Prensa Universitaria de Zaragoza, España.
- Miranda de la Lama, G.C. and Villarroel, M. and María G.A. 2011, Behavioural and physiological profiles following exposure to novel environment and social mixing in lambs, *Small Ruminant Research*, 103, 158– 163.
- Ortíz, E.C.I., De Lucas, T.J. y Trejo, G.A. 2001. Comportamiento al apareamiento en carneros Columbia y su relación con la tasa reproductiva del rebaño. En memorias del 4º. Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Etología Veterinaria. Ciudad Universitaria México D.F.
- Tilbrook, A.J. and Cameron, A.W.N. 1984. Ram mating preferences. In *Reproduction in sheep*. Editors Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. Cambridge University Press. 47-49.
- SAS (1999).

INTERACTION OF THE EWES YEARLING WITH RAMS AT BEGINNING OF MATING

SUMMARY

This work was performed with the objective of assessing the interaction during mating between yearling ewes with two rams along a cycle of 16 days. Each ram was attached to a rope of 5 m to a stake, keeping a separation between them 2 m, in order that 57 yearling ewes at the beginning of breeding, had the choice between one and the other. Four days of observation were set at intervals of four days and two periods of 9:30 to 11:30 h and 15:30 to 17:30 h. The number of interactions that presented the ewes with each ram was evaluated. The data analysis was done using contingency table and X^2 test. We found that in the first day interacted 59,6% and 50,8% of ewes with ram one and two respectively, finally were 87,7% and 94,7%, with no differences ($P > 0,05$). As for the category of interactions, the 72,3% of de ram 1 and 77,2% of the ram 2 were type 1 without differences ($P > 0,05$). The rest were distributed in the other categories.

Key words: Ethology, behavior, interaction, attraction.

CASTILLO, H.L.*; GONZÁLEZ, L.S.**; SALVADOR, F.O.***;
PÉREZ, R.M.A.**** Y DE LUCAS, T.J.*****

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - Universidad Nacional Autónoma de México Carretera Cuautitlán Teoloyucan S/N, Cuautitlán Izcalli Méx. México.

* laumvz@icloud.com; ** san_dy_sam@hotmail.com;

*** omsafl@hotmail.com; **** maprazo@unam.mx; ***** tronj@unam.mx

RESUMEN

Se evaluó la elección de ovejas primalas por algún semental durante el primer ciclo del apareamiento. Se sujetaron los dos machos reproductores con una cuerda (5 metros de longitud) a un par de estacas, evitando el contacto entre los machos, con objeto que 57 ovejas en empadre tuvieran la posibilidad de elegir entre uno u otro. Se evaluó el número de ovejas que interactuaron con cada semental y su permanencia, así mismo se integró un etograma con las conductas más relevantes. Para el análisis se utilizó GLM del SAS (1999), con el modelo de regresión de Poisson. Se encontró que la mayoría de las ovejas tuvieron interacción con los dos carneros, pero no todas de tipo sexual; 21 ovejas fueron montadas (36,8%) y por aceptar el macho se consideraron en estro. Cada carnero montó a 14 ovejas y 7 fueron compartidas. Se encontraron diferencias entre las conductas sexuales desplegadas, en especial cuando las hembras fueron compartidas, con excepción del venteo, las demás conductas fueron mayormente expresadas con el carnero 1 ($P \leq 0.05$) concluyendo en el servicio. Como conductas sexuales principales destacan el olfateo del perineo, el venteo (*flehmen*) y la orina por la hembra.

Palabras clave: etología, comportamiento sexual, elección machos.

INTRODUCCIÓN

El morueco, es el individuo más importante del rebaño de cría al intervenir directamente en la productividad, ya sea porque influye en las posibilidades de mejoramiento genético (Blockey y Wilkins, 1986), o sobre la tasa reproductiva del rebaño. El comportamiento reproductivo del carnero, ha sido objeto de estudio desde hace muchos años, tanto en aspectos básicos como prácticos, en éstos últimos a los conductuales o etológicos del comportamiento sexual se le ha dado una importancia especial, dado que las conductas que despliegan el macho junto con la hembra durante el apareamiento terminan con la monta y servicio. La conducta de los carneros en el apareamiento ha sido estudiada y descrita por diversos investigadores (Fowler, 1982 y 1984; Hulet, 1977; Kilgour, 1985) incluso algunos han buscado su vinculación con la fertilidad del rebaño. El apareamiento de una hembra se puede realizar con uno o varios machos (Ortiz *et al.*, 2002), lo cual puede tener importancia cuando alguno (o varios) de ellos son dominantes y tienen problemas de infertilidad, afectando severamente la productividad del rebaño (Fowler, 1982). En áreas confinadas, los machos dominantes tienden a suprimir la actividad al apareamiento de los subordinados (Hulet *et al.*, 1965). Durante el apareamiento se suelen conformar harenes por hembras en celo alrededor de los machos esperando a ser servidas. También se ha observado que determinadas ovejas son más atractivas a un macho que otras (Tilbrook y Cameron, 1984) y prefieren aparear algunas de ellas sobre otras aunque no se saben las razones, pero lo que no está claro es si los machos le son atractivos a las hembras y éstas lo eligen, por ello el objetivo de este trabajo fue determinar lo atractivo o no de los machos por hembras en celo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en una unidad de producción destinada a la producción y engorda de corderos para abasto, ubicada en el Altiplano Central de México. En un corral destinado para empadre, en el mes de noviembre y mitad de diciembre, se colocaron dos machos adultos sementales de la raza *Katahdin*, a los mismos se les restringió su movimiento a través de una cuerda que tenía una extensión de 5 m, la cual estaba sujeta a un arnés en el pecho y el otro extremo a una estaca; entre el perímetro de un carnero y otro había una distancia de 2 m, lo que impedía que estuvieran en contacto. Una vez sujetos, se integraron 57 ovejas primaras de pelo identificadas que iniciaban el empadre, esto en teoría permitió al menos una posible presencia de 3 a 4 ovejas en estro por día de observación que podían tener la posibilidad de elegir a los sementales. Todos los animales disponían de

alimento y agua *ad libitum*. Para la evaluación se establecieron cuatro días de evaluación en la que eran introducidos los carneros; al inicio del empadre y las siguientes se realizaron cada 4 días para completar un ciclo de 16 días, se establecieron dos periodos de observación a las 9:30 a 11:30 y de 15:30 a 17:30. Cuando una oveja se acercaba al semental, se empezaba un registro de sus conductas, con lo cual se estableció el tipo de comportamiento sexual y se conformó un etograma. Para su estudio se contabilizaron el número de veces por día que cada oveja mostró alguna de las conductas sexuales con el macho, para su análisis las ovejas con base a su respuesta fueron integradas en 8 grupos (ver tabla, 2) y se utilizó el Proc. GLM del SAS (1999), con el modelo de regresión de Poisson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que prácticamente todas las ovejas tuvieron interacción con los dos carneros, pero no todas de tipo sexual (González *et al.*, 2015 en prensa). En la tabla 1, se muestra el número y porcentaje de ovejas que tuvieron alguna conducta de las que se han reportado como sexuales y que se enumeran en la tabla 2, aunque es importante mencionar que las ovejas montadas fueron 21 (36,8%), señal de que al aceptar el macho se pueden considerar en estro. Como se aprecia en la tabla 1, cada semental montó a 14 ovejas y de estas 7 fueron compartidas entre ambos, finalmente durante los periodos de observación solo el carnero 1 tuvo servicios con 4 de esas ovejas, mientras que el 2 ninguno. Es interesante, que prácticamente todas las ovejas del rebaño tuvieran alguna conducta sexual, quizá éste sea uno de los mecanismos a través de los cuales se establecen las relaciones de los machos con las hembras cuando se encuentran por primera vez en el rebaño, porque de otra manera era de esperar que estas conductas solo lo tuvieran con aquellas que están en estro, al ser parte del etograma sexual (Pelletier *et al.*, 1977).

Tabla 1. Número de ovejas y porcentaje de interacciones de tipo sexual con carneros restringidos en su movimiento.

	Morueco 1		Morueco 2	
	n	%	n	%
No. de ovejas que tuvieron alguna conducta sexual con cada semental	48	84,2	49	85,9
No. de ovejas que tuvieron alguna conducta sexual solo con un semental	6	10,5	7	12,2
No. de ovejas que tuvieron alguna conducta sexual con ambos sementales	42	73,6	42	73,6
No de ovejas montadas con cada semental	14	24,5	14	24,5
Número de ovejas montadas solo con un semental	7	12,2	7	12,2
Número de ovejas servidas	4	7,0	0	0

En la tabla 2, se presentan las conductas del etograma sexual reportado por Pelletier *et al.* (1977), más la de orinar por la hembra que señalan Ortiz *et al.* (2002) y aquellas que fueron desplegadas con cada semental, destacan indudablemente las tres primeras que son el olfateo del perineo, la orina por la hembra y el venteo (*flehmen*). Sin embargo cuando se hizo el análisis con el grupo de hembras que fueron montadas y servidas, se encontró que no todas las ovejas desplegaron las conductas del etograma, incluso en las servidas solo dos mostraron las tres más expresadas. Los resultados muestran los promedios de cada conducta desplegada. En los primeros dos grupos, en el que los machos montaron ovejas que no compartieron, no hubo diferencias en ninguna de las conductas ($P \geq 0.05$). En cambio, cuando las hembras son compartidas (columnas 3 y 4), con excepción del venteo, las demás conductas fueron mayormente expresadas con el carnero 1 ($P \leq 0.05$), respuesta que concluye en el servicio de las hembras. En los grupos restantes de ovejas no montadas (columnas 5, 6, 7 y 8), no se encontraron diferencias en el despliegue de las conductas evaluadas ($P \geq 0.05$). Es muy probable que la limitación de movimiento de los carneros incluso la no competencia entre ellos inhibieron la manifestación de las otras conductas (Hulet *et al.*, 1965; Lindsay *et al.*, 1976), porque de las que fueron montadas y después las pocas servidas, como ya se dijo ninguna mostró todas las conductas del comportamiento sexual (tabla, 2). De las hembras montadas aunque todas las conductas fueron expresadas ninguna hembra la realizó con un solo carnero.

Tabla 2. Promedio ($ee \pm$) de conductas del etograma sexual entre ovejas primarias y los sementales.

	Morueco 1 montadas únicas	Morueco 2 montadas únicas	Morueco 1 montadas compartidas	Morueco 2 montadas compartidas	Ovejas solo con carnero 1 no montadas	Ovejas solo con carnero 2 no montadas	Morueco 1 compartidas no montadas	Morueco 2 compartidas no montadas
Olfateo perineo	2.16±0.12 ^b	1.83±0.15 ^b	2.56±0.10 ^a	1.94±0.14 ^b	1.36±0.14 ^c	1.12±0.16 ^{cd}	1.31±0.11 ^c	0.86±0.14 ^d
Venteo	1.15±0.22 ^a	0.47±0.35 ^{ab}	1.15±0.22 ^a	0.91±0.44 ^{ab}	1.09±0.25 ^{ab}	0.00±0.57 ^b	0.40±0.28 ^b	0.18±0.40 ^b
Micción	1.04±0.24 ^{ab}	0.51±0.31 ^{ab}	1.19±0.21 ^a	0.40±0.33 ^b	1.15±0.22 ^{ab}	0.22±0.44 ^{bc}	0.51±0.20 ^c	0.56±0.21 ^{bc}
Pateo	-	-	-	-	-	-	-	-
Lamido
Monta	1.14±0.21 ^{ab}	1.05±0.22 ^b	1.60±0.16 ^a	0.88±0.24 ^b
Servicio	-	-	1.25±0.5	-	-	-	-	-

Literales diferentes en renglón indican diferencia ($P \geq 0.05$).

Uno de los objetivos de este estudio era identificar la conformación de harems, sin embargo esto no se detectó en los periodos de observación, probablemente se haya debido a las pocas ovejas que podían estar en estro por día, a diferencia de lo que encontraron Ortiz *et al.* (2002) y

De Lucas *et al.* (2001), estos autores trabajaron con rebaños de más de 300 ovejas de raza Columbia lo que permitiría en teoría la posibilidad de unas 18 hembras en estro por día, encontraron que la formación de harem era clara, particularmente en los carneros adultos. Así mismo la inhibición de competencia entre machos pudo afectar también, ya que El Kaschab y Kallweit (1987) mencionan que el carnero de mayor rango reclama un mayor número de hembras en estro para su harem; también Linch *et al.* (1992), mencionan que la conformación de harem puede deberse más a los modelos de cortejo de las hembras que a los deseos de posesión de los machos. El tiempo de permanencia de las ovejas alrededor del carnero depende en buena medida del movimiento continuo o no de los machos, sea por la búsqueda de hembras en estro o por las peleas que generan con los otros carneros. Hay evidencias de que los machos eligen a las hembras con las que se aparean durante el empadre y puede ser solo con un determinado macho como lo señalan Ortiz *et al.* (2002).

BIBLIOGRAFÍA

- Blockey, M.A. and Wilkins, J.F. 1986. Field application of the ram serving capacity test. In *Reproduction in sheep*. Editors Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. Cambridge University Press.
- De Lucas, J.T., Fausto, R.E., Valdés, L.E.; Valenzuela, R.G. y Gómez, G.R. 2001. Observaciones sobre el comportamiento de apareamiento en ovinos con especial énfasis en la selectividad y la formación de harem. Memorias 4º Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Etología Veterinaria (SOMEV, A.C.) Febrero 1 y 2, 2001.
- El Kaschab, S. and Kallweit E. 1987. Dominance and mating behavior of rams under paddock conditions. *Zuchthyg*, 22, 203-208.
- Fowler, D.G. 1982. Mating activity and reproductive performance in Merino flocks where ram percentages are 1.0, 0.5 and 0.25. *Australian Journal Exp. Agric. Animal Husband.* 22: 268-273.
- Fowler, D.G. 1984. Reproductive behaviour of rams. *Reproduction in sheep*. P. 39- 46.
- Hulet C.V. 1977. Fertility in rams. Factors affecting fertility and collection, testing and evaluation of semen. *Veterinary Medicine / Small Animal Clinical.* 72(8) 1363-1367
- Kilgour, R.J. 1985. Mating behaviour of rams in pens. *Australian Journal Exp. Agric.* 25: 398:305.
- Lynch, J.J., Hinch, G.N. and Adams, D.B. 1992-. *The behaviour of sheep. Biological principles and implications for production.* Cab International, Csiro, Australia.
- Ortíz, E.C.I., De Lucas, T.J. y Trejo, G.A. 2001. Comportamiento al apareamiento en carneros Columbia y su relación con la tasa reproductiva del rebaño. En *memorias del 4º. congreso nacional de la sociedad mexicana de etología veterinaria.* Ciudad universitaria México D.F.

Pelletier, J., Signoret, J.P., Cahill, L., Cognié, Y., Thimonier, J. and Ortavant, R. 1977. Physiological processes in estrus, Ovulation And Fertility Of Sheep. In Proceedings Symposium, Management of reproduction in sheep and goats. University of Wisconsin, July 24-25.

SAS, 1999

Tilbrook A.J. and Cameron, A.W.N. 1984. Ram mating preferences. In Reproduction in sheep. Editors Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. Cambridge University Press. 47- 49.

PRELIMINAR STUDY ABOUT CHOICE OF THE RAMS FOR THE EWE LAMBS DURING MATING

SUMMARY

Choosing a ram by yearling ewes was evaluated during the first cycle of breeding. Two rams were limited with a rope of 5 m to a couple of stakes, avoiding contact, the object were that 57 breeding ewes had an option to choice between one or the other. It was evaluated the number of ewes sheep that interacted with each ram and their permanence, likewise was incorporated an ethogram with the most relevant behaviors. For analysis it was used the Proc. GLM of SAS (1999) with the Poisson's regression model. It was found that the majority of the ewes had interaction with the two rams, but not all were sexually oriented; 21 ewes were mounted (36.8%) and for accepting the male were considered in estrus. A ram mounted 14 sheep and 7 were shared, just the 1 number had service with 4 and the 2 none. It found differences between the sexual behavior deployed, especially when females were shared, deployed sexual behavior, except the vent (*flehmen*), other behaviors were mostly expressed with the ram 1 ($P \leq 0.05$) concluding with service found. As a main sexual behaviors were the sniffing of perineum, venting (*flehmen*) and urine by the female.

Key words: Ethology, sexual behavior, ram choice of rams.

VARIACIONES ESTACIONALES EN EL CONTENIDO DE Na^+ , K^+ Y PROTEÍNA TOTAL DEL PLASMA SEMINAL DE LA RAZA CAPRINA MURCIANO-GRANADINA

FAJARDO, A.; CASARES-CRESPO, L.; GÓMEZ, E.A. y
VIUDES DE CASTRO, M.P.*

CITA-IVIA. Polígono La Esperanza, nº 100, 12400 Segorbe (Castellón)

* viudes_mar@gva.es

RESUMEN

La cabra Murciano-Granadina es la raza de cabra lechera más importante en el área mediterránea. Varios autores han observado la existencia de variaciones estacionales en los parámetros seminales en esta especie. El objetivo de este estudio fue evaluar la concentración de proteína total, de potasio y de sodio en el plasma seminal a lo largo del año. Los resultados demuestran la existencia de un efecto de la estación en la composición del plasma seminal lo que coincide con una mejor calidad seminal durante la temporada reproductiva, según se muestra en la literatura. En conclusión, este estudio demuestra que la composición del plasma seminal del macho cabrío de la raza Murciano-Granadina se ve afectada por la estación del año y que el Na^+ , el K^+ y el contenido total de proteínas del plasma seminal son mayores durante el otoño (temporada reproductiva).

Palabras clave: variación estacional, plasma seminal, cabra.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las razas caprinas manifiestan variaciones importantes del estro a lo largo del año, presentando una estación de anestro y una estación de actividad sexual muy marcada. Para la difusión de la inseminación artificial en la raza Murciano-Granadina, el conocimiento de las características seminales de los machos a lo largo del año resulta de gran interés ya que la estación es una importante fuente de

variación en la producción y calidad seminal. La actividad reproductiva de la cabra Murciano-Granadina es estacional. Así, Roca *et al.* (1992 a y b) observaron un efecto significativo de la estación sobre la calidad del semen de esta raza, encontrando menor motilidad progresiva, concentración y porcentaje de acrosomas normales, además de una tasa de anomalías morfológicas superior durante el invierno, siendo el verano y el otoño las épocas de mayor calidad seminal. Por otra parte, hemos de considerar que los espermatozoides se mezclan con las diferentes secreciones de las glándulas anejas durante la eyaculación, produciéndose grandes cambios en el medio externo y activándose la motilidad espermática, ya que los espermatozoides de mamífero obtenidos de los testículos son inmóviles o muestran leves movimientos del axonema sin motilidad progresiva (Gatti *et al.*, 1993). Los cambios en las propiedades de la membrana plasmática, y en particular en su conductancia iónica, en respuesta a factores ambientales han mostrado ser potentes reguladores de la activación del metabolismo y la motilidad en espermatozoides de diversas especies (Busa and Nucitelli, 1984). Además, varios autores han observado que el sodio está implicado en la regulación del pH intracelular (Babcock and Pfeiffer, 1987; Gatti *et al.*, 1993), por lo que la variación del contenido iónico del plasma seminal podría afectar al metabolismo espermático y consecuentemente a su calidad seminal. Además, el plasma seminal contiene una serie de factores, principalmente proteínas, que previenen reacciones acrosómicas inadecuadas y aumentan la capacidad fecundante del espermatozoide (Calvete and Sanz, 2007; Manjunath *et al.*, 2007; Muiño-Blanco *et al.* 2008). Sin embargo, en la literatura existente no se ha encontrado ningún trabajo donde se determine el contenido en sodio, potasio y/o proteína en el plasma seminal caprino. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar el contenido Na^+ , K^+ y proteína total del plasma seminal a lo largo del año en la raza Murciano-Granadina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en la estación experimental de Moncada, del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), litoral norte de Valencia; a $39^{\circ} 32' 43''\text{N}$, $0^{\circ} 23' 40''\text{W}$ a una altitud de 31 m. Seis machos cabríos de la raza Murciano-Granadina se alojaron en las instalaciones del IVIA, con un rango de edad entre los 10 y los 24 meses de edad.

A lo largo de un año se obtuvieron los eyaculados mediante una vagina artificial previamente atemperada a $43\text{-}46^{\circ}\text{C}$, utilizándose una hembra estrogenizada sujeta a un potro de monta. Finalizada la recuperación se efectuó la determinación del volumen del eyaculado por lectura directa de la graduación del tubo de recogida. Para la cuantificación de

la concentración espermática se utilizó un espectrofotómetro calibrado específicamente para caprino (IMV® Accucell 914) mediante dilución de una alícuota del eyaculado (10 μ L de eyaculado en 3990 μ L de NaCl 0,9%). A continuación, los eyaculados fueron centrifugados a 10500 rpm durante 10 minutos a 22°C. El sobrenadante resultante fue recuperado y volvió a centrifugarse en las mismas condiciones. Finalmente, el sobrenadante de esta segunda centrifugación fue almacenado a -80°C hasta su uso. La concentración proteica total del plasma seminal se determinó mediante el método del ácido bicinconínico (BCA), utilizando BSA como patrón de proteínas (Smith *et al.*, 1985). Las concentraciones de sodio y potasio se cuantificaron mediante el método del acetato de uranilo y un test turbidimético, respectivamente.

El efecto de la estación del año y del macho sobre las características seminales estudiadas fueron analizadas mediante un análisis de varianza con el paquete estadístico Statgraphics®Plus5.1 (Statistical Graphics Corp., Rockville, USA). Los datos se presentan como medias mínimo cuadráticas \pm error estándar de la media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los datos de temperatura ambiente registrados durante el periodo experimental. Mientras que en las tablas 2 y 3 se muestran las características seminales de la raza Murciano-Granadina en función del macho y la estación, respectivamente. Se observó el efecto del macho en todas las características seminales estudiadas ($P < 0,05$). Sin embargo, a pesar de estas diferencias entre individuos, todos los animales presentaron el mismo patrón estacional en los parámetros estudiados. En lo que se refiere a la estación, se observaron diferencias significativas en los parámetros seminales analizados a excepción del volumen. Así, la concentración disminuyó en otoño, lo que coincide con los resultados observados para diferentes razas caprinas cuando son criadas en latitudes similares (Roca *et al.*, 1992 a y b; Karagiannidis *et al.*, 2000), no observándose diferencias significativas entre el resto de estaciones. La concentración de proteína total en el plasma seminal fue significativamente superior en otoño, seguida del invierno, correspondiendo las menores concentraciones proteicas a la primavera y el verano, que presentaron valores similares.

Los valores medios de sodio y potasio del plasma seminal obtenidos en este trabajo son similares a los observados por Kavanagh. (1985) en el fluido prostático humano (157 mM de sodio y 66'8 mM de potasio). Se han descrito variaciones estacionales en las características seminales en diferentes razas caprinas en el área mediterránea, observándose un

incremento de la calidad del semen en la estación reproductiva (Roca *et al.*, 1992 a y b; Ritar, 1993; Karagiannidis *et al.*, 2000). En el presente trabajo, la concentración de sodio fue significativamente superior en otoño e invierno frente al verano y la primavera ($P < 0,05$), mientras que la concentración de potasio mostró valores significativamente más altos en otoño frente al resto de las estaciones ($P < 0,05$), siendo similares los valores observados en invierno y primavera. En ovino, se ha visto que el pH interno del espermatozoide es muy dependiente del externo, demostrándose que el potasio exterior actúa sobre el pH interno a través de un complejo mecanismo en el que interviene el calcio (Gatti *et al.*, 1993). Por otro lado, Babcock *et al.* (1983), observaron que al incrementar el pH externo a 7,8-8,2 empleando un medio a 120mM de KCl se lograba un aumento de la actividad metabólica y cinética en espermatozoide de bovino. Por ello, las mayores concentraciones de sodio y potasio encontradas en el plasma seminal en el presente trabajo determinarían una mayor actividad metabólica y motilidad de los espermatozoides caprinos en otoño, lo que coincide con las observaciones de Roca *et al.* (1992 a y b) en la raza Murciano-Granadina. Por otra parte, se han observado cambios estacionales en el contenido proteico del plasma seminal de cabras Saanen, con la presencia de bandas proteicas exclusivas de la estación reproductiva, además de un efecto estacional sobre la concentración de otras proteínas que están presentes a lo largo de todo el año (La Falci *et al.*, 2002). Esto coincidiría con los resultados obtenidos en el presente trabajo, ya que se observaron mayores concentraciones de proteína total durante el otoño. Sería necesario estudiar el perfil proteico en esta raza para determinar si existen proteínas exclusivas de la estación reproductiva así como la producción diferencial de las proteínas presentes a lo largo del año.

Tabla 1. Variación estacional de la temperatura durante el periodo experimental.

Temperatura (°C)	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
Máxima	37,40	33,60	26,10	27,10
Media	24,46	17,51	10,26	13,92
Mínima	12,30	4,30	-1,20	-2,60

Tabla 2. Parámetros seminales estudiados para cada uno de los machos utilizados.

MACHO	Proteína total (g/L)	Na ⁺ (mM)	K ⁺ (mM)	Concentración (x10 ⁹ /mL)	Volumen (mL)
2	53,98 ± 1,32 ^a	151,60 ± 6,19 ^a	53,44 ± 1,62 ^b	2,45 ± 0,14 ^{cd}	0,67 ± 0,06 ^a
5	57,00 ± 1,28 ^{ab}	141,99 ± 5,90 ^b	52,54 ± 1,5 ^b	2,94 ± 0,13 ^{de}	0,95 ± 0,06 ^b
6	52,96 ± 1,34 ^{bc}	150,79 ± 6,03 ^b	46,67 ± 1,64 ^a	2,41 ± 0,14 ^c	0,67 ± 0,06 ^a
8	63,69 ± 1,26 ^c	156,38 ± 5,73 ^c	59,71 ± 1,53 ^c	3,14 ± 0,13 ^e	1,53 ± 0,06 ^d
9	68,71 ± 1,33 ^d	151,79 ± 6,23 ^c	64,46 ± 1,63 ^d	2,02 ± 0,14 ^b	1,15 ± 0,06 ^c
13	58,72 ± 1,44 ^e	154,15 ± 6,49 ^d	59,76 ± 1,75 ^c	1,39 ± 0,14 ^a	0,60 ± 0,07 ^a

^{a,b,c,d,e}: valores con distinto superíndice en la misma columna difieren significativamente al 95% ($P < 0,05$).

Tabla 3. Parámetros del eyaculado y del plasma seminal en función de la estación.

ESTACIÓN	Proteína total (g/L)	Na ⁺ (mM)	K ⁺ (mM)	Concentración (x10 ⁹ /mL)	Volumen (mL)
Verano	55,05 ±0,99 ^a	127,91 ±4,34 ^a	56,86±1,21 ^b	2,48±0,084 ^b	0,89±0,04
Otoño	67,52±1,08 ^c	171,73 ±6,17 ^b	65,10 ±1,31 ^c	2,05±0,094 ^a	0,97 ±0,05
Invierno	61,75 ±1,1 ^b	161,46 ±4,81 ^b	52,82±1,34 ^a	2,67±0,232 ^b	0,83±0,05
Primavera	52,38 ±1,18 ^a	139,36±4,94 ^a	49,60±1,45 ^a	2,59 ±0,102 ^b	1,00±0,05

^{a,b,c}: valores con distinto superíndice en la misma columna difieren significativamente al 95% ($P < 0,05$).

En conclusión, este estudio demuestra que la composición del plasma seminal del macho de la cabra Murciano-Granadina está afectada por la estación, observándose un mayor contenido en sodio, potasio y proteína total durante la época de fotoperiodo decreciente (final del verano y otoño).

AGRADECIMIENTOS

A. Fajardo, L. Casares-Crespo han sido financiados por becas de formación y especialización del IVIA y el Fondo Social Europeo.

BIBLIOGRAFÍA

- Babcock, Rufo, & Lardy 1983. "Potassium-dependent increase in cytosolic pH stimulate metabolism and motility of mammalian sperm" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 1327-1983.
- Babcock, & Pfeiffer 1987. "Independent elevation of cytosolic Ca⁺⁺ and pH by voltage dependant and pH sensitive mechanisms" J. Biol. Chem. 262: 15041-15047.
- Busa, & Nuccitelli 1984. "Metabolic regulation via intracellular pH" Am. J. Physiol. 246: 409-438.
- Calvete & Sanz 2007. "Insights into structure-function correlations of ungulate seminal plasma proteins" Soc Reprod Fertil Suppl. 65:201-15.
- Gatti, Chevrier, Paquignon & Dacheux 1993. "External ionic conditions, internal pH and motility of ram and boar spermatozoa" Journal of Reproduction and Fertility. 98:439-449.
- Karagiannidis, Varsakeli & Karatzas, 2000. "Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat Bucks born and raised in Greece" Theriogenology 53: 1285-1293.
- Kavanagh, 1985. "Sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, citrate and chloride content of human prostatic and seminal fluid" Journal of Reproduction and Fertility 75:35-41.
- La Falci, Tortorella, Rodrigues, Brandelli 2002. "Seasonal variation of goat seminal plasma proteins" Theriogenology 57: 1035-1048.

- Manjunath, Bergeron, Lefebvre & Fan, 2007. "Seminal plasma proteins: functions and interaction with protective agents during semen preservation" *Soc Reprod Fertil Suppl.* 65:217-28.
- Muñoz-Blanco, Pérez-Pé & Cebrián-Pérez, 2008. "Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress" *Reprod Domest Anim.* 43 Suppl 4:18-31.
- Ritar, 1993. "Control of ovulation, storage of semen and artificial insemination of fibre-producing goats in Australia" A review. *Aust J Exp Agric* 33:807-820.
- Roca, Martínez, Sánchez-Valverde, Ruiz, & Vázquez, 1992a. "Seasonal variations of semen quality in male goats: study of sperm abnormalities" *Theriogenology* 38: 115-I 25. 27.
- Roca, Martínez, Vázquez & Coy, 1992b. "Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area" *Animal Reproduction Science* 29:255-262.
- Smith, Krohn, Hermanson, Mallia, Gartner, Provenzano, Fujimoto, Goeke, Olson, Klenk, 1985. "Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical biochemistry*" 150(1): 76-85.

SEASONAL VARIATIONS OF Na^+ , K^+ AND TOTAL PROTEIN CONTENT IN THE SEMINAL PLASMA COMPOSITION OF MURCIANO-GRANADINA MALE GOAT

SUMMARY

The Murciano-Granadina is the most important dairy goat breed in the Mediterranean area. Several authors have observed the existence of seasonal variations in the seminal parameters in this species. The aim of this study was to evaluate the total protein, potassium and sodium concentration in seminal plasma along the year. The results demonstrate the existence of a season effect on seminal plasma composition and this fact gives rise to better seminal quality during the reproductive season showed in the literature. In conclusion, this study demonstrates that the seminal plasma composition of the Murciano-Granadina male goat is affected by the season and that Na^+ , K^+ and total protein content of seminal plasma are higher in autumn (reproductive season).

Key words: Season variation, seminal plasma, goat.