



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Dinámica de anticuerpos y factores de riesgo para DVB, IBR, Leptospira y Neospora en muestras de leche de hatos de la Provincia de Ubaté

Mónica Alejandra Vergara Galván

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia

2019

Dinámica de anticuerpos y factores de riesgo para DVB, IBR, Leptospira y Neospora en muestras de leche de hatos de la provincia de Ubaté

Mónica Alejandra Vergara Galván

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Salud Animal

Directora:

Doctora Claudia Jiménez E DVM MSc DVSc DACT

Codirector (a):

Doctor Jorge Zambrano V. DVM.MPVM.PhD.DACT

Grupo de Investigación:

Reproducción y Salud de hato

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia

2019

A mi madre, que es la mujer más bella y especial del mundo, que ha luchado por darme todo y más de lo que merezco. Por ella he llegado hasta acá y espero alcanzar más metas.

Agradecimientos

Principalmente a la Dra. Claudia Jiménez Escobar y al Dr. Jorge Zambrano Varón, coautores de esta investigación, por su gran apoyo como guías durante el transcurso de mi maestría y pregrado. Les agradezco a ellos por ser siempre una fuente de inspiración y respeto, además de considerarlos como mi segunda familia, al encontrar siempre en ellos una enseñanza y un consejo, que me han ayudado a ser mejor persona y profesional

Al proyecto “Innovación, ciencia y tecnología para productores de leche en la provincia de Ubaté - Cundinamarca”; de la Secretaria de Ciencia y Tecnología de la gobernación de Cundinamarca por el financiamiento de esta investigación

Dr. Juan Carulla y su grupo de trabajo, gracias a su propuesta y dedicación, pude iniciarme como investigadora, brindándome una gran oportunidad para mí ser profesional.

A mi madre, mis hermanas, mi abuela, tía y Bustos, el mejor apoyo y cariño que una persona puede tener.

Al Dr. Harvey Lozano por tener un consejo y una frase alegre en cada momento difícil.

A mis amigos y colegas Javier Pérez, Ricardo Buitrago y Jorge Pinzón, por siempre apoyarme, tenerme paciencia y ayudarme profesionalmente.

Al Dr. Alejandro Castellanos por su paciencia y amabilidad en enseñarme a procesar las muestras.

A mis amigos Miguel Merchán, Hauer Barbosa, Andrea Ruiz y en especial a mi compañero de maestría Jessé González, personas que me han ayudado siempre con una sonrisa y conocimientos.

Resumen

Se diseñó un estudio de cohorte, evaluando IBR, DVB, Neosporosis y leptospirosis, en la Provincia de Ubaté – Cundinamarca. Se hizo un seguimiento de la prevalencia y dinámica a nivel de hato detectando anticuerpos en leche de tanque. Se tomaron muestras por finca trimestralmente entre 2016 y 2017. La información de manejo y salud reproductiva de 365 pequeños productores, se tomó cada 45 días. Estos datos y los resultados de las pruebas se analizaron por regresión logística binaria para establecer factores de riesgo ($p < 0.05$). Además, se realizó un análisis espacial de riesgo por ubicación y la presencia de clústers. Se encontró una prevalencia para IBR, DVB, neosporosis y leptospirosis del 27.9%, 79.7%, 90.6% y 43.5% respectivamente. La Tasa de Incidencia (100 hatos/ mes), por trimestre, fue 2.3, 2 y 2.2 para IBR; 11.2, 7.7 y 14.8 para DVB; 14.4, 14.0 y 20.4 para neosporosis y 0.8, 2.0 y 3.0 para leptospirosis. Los factores de riesgo asociados a IBR fueron el uso de inseminación artificial, la presencia de endometritis; para DVB se encontró como protección, hatos no expuestos a PI. Para *N. caninum* se encontró como factor de protección, la venta de animales y de riesgo, la presencia de trastornos reproductivos al igual que para *L. hardjo*. Hatos con más de 6 o 7 hembras fue un factor de riesgo común para IBR, DVB y *L. hardjo*. En el análisis espacial, los municipios con mayor riesgo ($P < 0.05$) a presentar enfermedad, fueron Carmen de Carupa para DVB (RR:3.09), neosporosis (RR:3.09) y leptospirosis (RR:3.49) y Sutatausa para IBR (RR:5.14) y DVB (RR: 3.45). Se concluye que la muestra de leche es útil para evaluar la exposición, dinámica y establecimiento de factores de riesgo asociados a diversas enfermedades en una población

Palabras clave: DVB, IBR, *N. caninum*, *L. hardjo*, exposición, factores de riesgo, prevalencia.

Abstract

A cohort study was designed to evaluate antibodies dynamics for IBR, BVDV, Neosporosis and leptospirosis, in the Province of Ubaté, Cundinamarca in bulk tank milk. The prevalence and dynamics at the herd level were monitored quarterly between 2016 and 2017. Management information and reproductive health of 365 small producers was taken every 45 days. These data and the results of the tests were analyzed by binary logistic regression ($p < 0.05$) to establish risk factors. In addition, a spatial risk analysis was performed by location and the presence of clusters was detected. Prevalence for IBR, BVDV, neosporosis and leptospirosis was 27.9%, 79.7%, 90.6% and 43.5% respectively. Incidence rate for every 100 herds / month, per quarter, was 2.3, 2.0, and 2.2 for IBR; 11.2, 7.7 and 14.8 for BVDV; 14.4, 14.0 and 20.4 for neosporosis and 0.8, 2.0 and 3.0 for leptospirosis. Risk factors associated with IBR were the use of artificial insemination and the presence of endometritis. For BVDV herds not exposed to PI was found as a protective factor. For Neosporosis, the sale of animals was considered a protective factor and reproductive disorders was a risk factor as well as for *L. harjo*. Herds with more than 6 or 7 females was a common risk factor for IBR, BVDV and *L. harjo*. In the spatial analysis, the municipalities with the highest risk were Carmen de Carupa for BVDV (RR: 3.09), neosporosis (RR: 3.09) and leptospirosis (RR: 3.49) and Sutatausa for IBR (RR: 5.14) and BVDV (RR: 3.45). It is concluded that the milk sample is useful to evaluate the exposure, dynamics and establishment of risk factors associated with various diseases in a population.

Keywords: BVDV, IBR, *N. caninum*, *L. hardjo*, exposure, risk factors, prevalence

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras.....	XV
Lista de tablas	XIX
Lista de abreviaturas.....	XXIII
Introducción	25
1. Capítulo: Descripción y epidemiología del uso de muestras de leche para el diagnóstico de anticuerpos de DVB, IBR, Leptospirosis y Neosporosis	29
1.1 Diarrea Viral Bovina (DVB)	29
1.1.1 Vacunación	33
1.1.2 Identificación de animales Persistentemente infectados.....	36
1.2 Rinotraqueitis Viral Bovina	37
1.3 Neosporosis.....	41
1.4 Leptospirosis	44
1.5 Estudios de dinámica y prevalencia	49
2. Capítulo: Dinámica de anticuerpos y factores de riesgo para DVB, IBR, Leptospira y Neospora en muestras de leche de hatos de la provincia de Ubaté.....	55
2.1 Introducción	55
2.2 Hipótesis.....	56
2.3 Objetivo general.....	57
2.4 Objetivos específicos.....	57
2.5 Materiales y métodos.....	57
2.5.1 Población objetivo	57
2.5.2 Toma de información y seguimiento.....	58
2.5.3 Toma de muestras y prueba diagnósticas	59
2.5.3.1 Diarrea Viral Bovina	59
2.5.3.2 Rinotraqueitis Infecciosa Bovina	61
2.5.3.3 Leptospirosis.....	62
2.5.3.4 Neosporosis	63
2.5.4 Descripción de la población.....	64
2.5.4.1 Variables de caracterización	64
2.5.4.2 Variables de caracterización asociadas a manejo del hato	64
2.5.4.3 Variables asociadas a eventos y parámetros reproductivos	66
2.5.5 Prevalencia de anticuerpos DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis.....	67
2.5.6 Dinámica de anticuerpos de DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis.....	67

2.5.7	Categorización de los hatos por niveles de exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis	68
2.5.8	Georreferenciación y análisis espacial	68
2.5.8.1	Análisis espacial de la prevalencia a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis	68
2.5.9	Factores de riesgo y asociación con la exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis	69
2.6	Resultados	69
2.6.1	Descripción de la población	69
2.6.2	Prevalencia de anticuerpos a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis ..	74
2.6.2.1	Prevalencia de hatos con animales persistentemente infectados (PI) ..	76
2.6.3	Dinámica de anticuerpos de DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis ...	77
2.6.3.1	Variación de la tasa de incidencia por municipio	79
2.6.4	Categorización de los hatos por niveles de exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis	82
2.6.5	Análisis espacial de la prevalencia y distribución geográfica de la exposición	83
2.6.6	Análisis espacial de clúster	88
2.6.7	Factores de riesgo asociación con la exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis	91
2.7	Discusión	93
2.7.1	Prevalencia de anticuerpos	94
2.7.1.1	Prevalencia de anticuerpos para HVB-1	94
2.7.1.2	Prevalencia de anticuerpos para DVB	95
2.7.1.3	Prevalencia de anticuerpos para <i>N. caninum</i>	95
2.7.1.4	Prevalencia de anticuerpos para <i>L. hardjo</i>	96
2.7.2	Dinámica de anticuerpos y categorización de los hatos dependiendo a su nivel de exposición	97
2.7.2.1	Dinámica y categorización para HVB-1	97
2.7.2.2	Dinámica y categorización para DVB	98
2.7.2.3	Dinámica y categorización para <i>N. caninum</i>	99
2.7.2.4	Dinámica y categorización para <i>L. hardjo</i>	100
2.7.3	Análisis espacial de las prevalencias y clúster	101
2.7.3.1	Análisis espacial para HVB-1	101
2.7.3.2	Análisis espacial para DVB	102
2.7.3.3	Análisis espacial para <i>N. caninum</i>	103
2.7.3.4	Análisis espacial para <i>L. hardjo</i>	103
2.7.4	Factores de riesgo asociados con la presencia de las enfermedades	104
2.7.4.1	Factores de riesgo asociados HVB-1	104
2.7.4.2	Factores de riesgo asociados DVB	105
2.7.4.3	Factores de riesgo asociados <i>N. caninum</i>	106
2.7.4.4	Factores de riesgo asociados <i>L. hardjo</i>	107
2.7.4.5	Número de animales como factor de riesgo para HVB-1, DVB y <i>L. hardjo</i>	108
3.	Conclusiones y recomendaciones	109
3.1	Conclusiones	109

3.2	Recomendaciones	110
A.	Anexo: Formato de sanidad	113
B.	Anexo: Análisis univariado.....	115
	Bibliografía	125

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1 Programa de erradicación de DVB en Suecia. Resultados en leche de tanque usando un ELISA indirecto entre 1993 y 2001. Los hatos se categorizaron en tres niveles: en negro, los hatos con la posible presencia de PI; en gris oscuro, hatos con prevalencia moderada de seropositivos y gris claro los hatos con prevalencia leve y en blanco se encuentran los hatos considerados libres de PI Modificado de Greiser-Wilke et al. 2003.	30
Figura 1-2 Hatos categoría1: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos vacunados sin la presencia de animales PIs. Muestra el aumento en la DO, que se presenta en los meses 13, 25 y 37, que se da después de la vacunación Tomado de (R. Booth, Cranwell, y Brownlie 2013).....	34
Figura 1-3 Hatos categoría 2: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos que no vacunan y sin animales PI. Se observa la disminución en la DO de los hatos por la disminución de anticuerpos de memoria al no tener contacto con animales infectados Tomado de (R. Booth, Cranwell, y Brownlie 2013).	35
Figura 1-4 Hatos categoría 3: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos vacunados y con animales PI presentes. Se observa un nivel alto de DO, debido a la presencia de anticuerpos vacunales y por la presencia de animales PI; algunos aumentos se pueden relacionar con la entrada de animales infectados al ordeño cuando se tomó la muestra de leche. Tomado de (R. Booth, Cranwell, y Brownlie 2013).	35
Figura 1-5 Relación entre el nivel de DO de IBR y el tamaño del hato. Se encuentra mayor DO en hatos de menor tamaño, debido probablemente a que son hatos donde hay una menor dilución de la muestra de leche (Tomado de H. Rivera et al.2002).	38
Figura 1-6 Resultado de la curva ROC para determinar el punto de corte adecuado para el kit ELISA HerdChek anti-neospora de IDEXX. Se establece con una dilución de 1:2, el punto de corte en 0,261 con una Se y Sp del 90%. Tomado de (Schaes et al. 2004)....	42
Figura 1-7 Relación entre el tamaño de hato y el promedio de porcentaje de positividad ($R^2=0.708$ y $P< 0,05$), mostrando que los hatos de mayor tamaño tiene una tendencia a tener mayor seropositividad (Tabatabaeizadeh et al. 2011).....	46
Figura 1-8 Análisis espacial: Clúster de un radio de 13.7 km ($p < 0.01$) en Yamagata, Japón con una prevalencia de 65.1% a <i>L. hardjo</i> , donde se encontró mayor riesgo ($p=0.004$) de encontrar animales positivos en hatos con más de 60 animales. Tomado de (Miyama et al. 2018).....	48
Figura 1-9. Prevalencia en muestras de leche de tanque, de marzo a noviembre, sin diferencia significativa entre muestreos. En cuanto la incidencia, se encontró un aumento	

en el periodo de agosto a noviembre relacionado con el final de la lactancia y al aumento de producción de anticuerpos para <i>N. caninum</i> . Tomado de (E. Doherty et al.2013).	51
Figura 1-10 Prevalencia de diferentes enfermedades en Gran Bretaña, de abril de 2014 a marzo de 2015. De color negro se muestran las zonas de mayor prevalencia; se presentó mayor riesgo de presentación de DVB y <i>Leptospira hardjo</i> en Gales con OR 14.2 y 32,2 respectivamente; Escocia presentó mayor riesgo para HBV-1 (OR 6.5). No se encontró mayor riesgo a <i>N. caninum</i> en ninguna zona. Tomado de (Velasova et al. 2017)	52
Figura 1-11 A. Variación de las fincas respecto al muestreo trimestral anterior, se observa la constancia o el aumento fincas en azul o viejas positivas atreves del tiempo, puede deberse a la presencia de enfermedades crónicas o una baja presentación de casos nuevos entre muestreos. B Porcentaje de fincas que permanecieron siempre positivas o negativas o presentaros variación entre muestreos, observando que para DVB, la mayoría de fincas siembre se presentaron negativas, un 15% presento variación y menos del 5% presento positividad en los 4 muestreos, concluyendo probablemente una baja una infección activa para esta enfermedad en los hatos muestreados. Tomado de (Velasova et al. 2017)	53
Figura 2-1 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para HVB-1	77
Figura 2-2 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para DVB	77
Figura 2-3 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para <i>N. caninum</i>	78
Figura 2-4 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para <i>L. hardjo</i>	78
Figura 2-5 Mapa de exposición a HVB-1 en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté entre Septiembre 2016 - Junio 2017	83
Figura 2-6 Mapa de exposición a DVB en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2018.	85
Figura 2-7 Mapa de exposición a <i>N. caninum</i> en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2018	86
Figura 2-8. Mapa de exposición a <i>L. hardjo</i> en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017	87
Figura 2-9 Mapa clúster de exposición a HVB-1 en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017	89
Figura 2-10. Mapa clúster de exposición a DVB en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.	89
Figura 2-11. Mapa clúster de exposición a <i>N. caninum</i> en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.	90
Figura 2-12. Mapa clúster de exposición a <i>L.hardjo</i> en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.....	90

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1 Clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica usado en Suecia para lograr establecer un nivel de prevalencia y posible presencia de animales PI. Modificado de Greiser-Wilke et al.(2003).	31
Tabla 1-2 Prevalencia y clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica en Perú, Irán, Escocia y Brasil, usando el modelo sueco, para establecer niveles de prevalencia y posible presencia de animales PI en los hatos nivel 3.	31
Tabla 1-3 Clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica tomado de P, 2001 donde se clasifican los hatos de negativo a alto, teniendo un porcentaje de probable prevalencia para cada nivel.	33
Tabla 1-4 Comparación de los resultados de suero y leche de tanque de 11 hatos de un ELISA para <i>N. caninum</i> . Se observa que todos los hatos con un punto de corte < 0.6, presenta una prevalencia menor al 15% con excepción del hato 6, debido probablemente a error de laboratorio. Tomado de Wapenaar, Barkema, O’Handley, & Bartels, (2007). .	43
Tabla 1-5. Categorización de los hatos según su tamaño y número de hatos que se presentan dentro de cada categoría sobre PP (porcentaje de positividad) > a 60, se observa que a mayor es la cantidad de animales en cada hato, mayor es la probabilidad de estar en un alto PP, teniendo mayor presentación en hatos como más de 30 animales Modificado de Leonard et al.,(2004).	45
Tabla 1-6. Prevalencia para <i>L. hardjo</i> de acuerdo tamaño del hato según la clasificación de Pritchard (2001). Se tuvo una prevalencia general del 3.2% y la mayoría de hatos se clasificaron dentro del grupo de baja prevalencia debido probablemente a pocos animales positivos o que los animales infectados se encontraban fuera del ordeño. Modificado de Krzysztof & Bierowiec (2014).....	47
Tabla 1-7. Prevalencia de brucelosis, leucosis, DVB e IBR en una región de Chile en leche de tanque en tres periodos diferentes. Tomado de Felmer & Miranda, (2009).....	50
Tabla 2-1. Interpretación de los resultados para el diagnóstico de anticuerpos de DVB, según el porcentaje de muestra positiva usando la prueba IDEXX BVDV p80 Ab® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA).....	60
Tabla 2-2. Interpretación de los resultados para el diagnóstico de anticuerpos contra HVB-1 según el porcentaje de bloqueo usando la prueba IDEXX IBR gB® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA).	61
Tabla 2-3. Interpretación de los resultados para el diagnóstico anticuerpos contra <i>Leptospira interrogans</i> serovar <i>hardjo</i> según el porcentaje de positividad usando la prueba PrioCHECK® (<i>L. hardjo</i> Ab de Prionics, Suiza).	62
Tabla 2-4. Interpretación de los resultados de anticuerpos contra <i>N. caninum</i> según el resultado de muestra positiva usando la prueba HerdChek® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA)	63

Tabla 2-5. Inventario y ubicación de los hatos de la Provincia de Ubaté seguidos durante el periodo de sep/2016 a jul/2017	64
Tabla 2-6. Información sanitaria de los hatos en la Provincia de Ubaté durante el periodo de sep/2016 a jul/2017.....	65
Tabla 2-7. Eventos sanitarios categorizados de manera dicótoma (Si/No) ocurridos en terneras de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017	65
Tabla 2-8. Eventos sanitarios en animales adultos categorizados de manera dicótoma (Si/No) recolectados de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017.....	65
Tabla 2-9. Variables de manejo reproductivo de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017.....	66
Tabla 2-10 Parámetros reproductivos y prevalencia de enfermedades (variables continuas) en la Provincia de Ubaté de los hatos seguidos en el periodo de sep/2016 a jul/2017....	66
Tabla 2-11 Inventario animal de los 334 productores de los 10 municipios de la Provincia de Ubaté – Cundinamarca, entre el periodo de sep/2016 a jul/2017	70
Tabla 2-12 Distribución de productores por el número de animales en ordeño y raza predominante en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017	70
Tabla 2-13 Variables de bioseguridad en la Provincia de Ubaté de los 334 hatos en el periodo de sep/2016 a jul/2017	71
Tabla 2-14 Método de servicio en reproducción en los productores en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017	72
Tabla 2-15 Parámetros reproductivos en la Provincia de Ubaté de los hatos seguidos durante el periodo de sep/2016 a jul/2017. SxCx: Servicios por concepción. DA: Días abiertos. DL: Días en leche.....	73
Tabla 2-16 Prevalencia de las principales enfermedades reproductivas en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017- , 3.1% \pm 1.72 de prevalencia de anestro y 1.9% \pm 1.15 prevalencia de descarte	74
Tabla 2-17 Prevalencia general de exposición por municipios en la Provincia de Ubaté de los 365 hatos en el periodo de sep/2016 a jul/2017	75
Tabla 2-18 Número de muestras tomadas y prevalencias por muestreo para cada por enfermedad.....	76
Tabla 2-19 Prevalencia por hato con la presencia de animales PI en la Provincia de Ubaté de los 169 hatos.....	76
Tabla 2-20 Tasa de incidencia de HVB-1 en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté	79
Tabla 2-21 Tasa de incidencia de DVB en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté	80
Tabla 2-22 Tasa de incidencia de <i>N caninum</i> en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté	81
Tabla 2-23. Tasa de incidencia de <i>L. hardjo</i> en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté	82

Tabla 2-24 Categorización de los hatos según su resultado de exposición en los cuatro muestreos en la Provincia de Ubaté - Cundinamarca	83
Tabla 2-25 Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Susa con respecto a los demás municipios para HVB-1	84
Tabla 2-26 Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Guachetá con respecto a los demás municipios para DVB	86
Tabla 2-27. Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Sutatausa con respecto a los demás municipios para <i>N. caninum</i>	87
Tabla 2-28. Resultados de Riesgo Relativo (RR) entre el municipio de Sutatausa con respecto a los demás municipios para <i>L. hardjo</i>	88
Tabla 2-29 Resultados regresión logística binaria. Factores de riesgo asociados a cada enfermedad	92

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

	Abreviatura	Término
1	Ac	Anticuerpo
2	Ag	Antígeno
3	c	casos
4	CAR	corporación autónoma regional
5	CNx	Control negativo
6	CPx	Control positivo
7	DA	Días abiertos
8	DEL	Días en leche
9	DO	Densidad óptica
10	DVB	Diarrea Viras Bovina
11	ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima
12	FEDEGAN	Federación Colombiana de Ganaderos
13	gE	Glicoproteína E
14	Has	Hectáreas
15	HVB-1	Herpes virus bovino tipo 1
16	IA	Inseminación artificial
17	IBR	Rinotraqueítis infecciosa bovina
18	IC	Intervalo de confianza
19	ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
20	IGAC	Instituto Geográfico Agustín Codazzi
21	Km	Kilómetros
22	l	litros
23	M/N	Cociente muestra negativa
24	M/P	Muestra positiva
25	OR	Odds Ratio
26	p80	Proteína 80
27	PCR	Reacción en cadena de polimerasa
28	PI	Persistentemente infecta
29	PP	Porcentaje de positividad
30	R	Coefficiente de determinación
31	ROC	Receiver Operating Characteristic

	Abreviatura	Término
32	RR	Riesgo Relativo
33	Se	Sensibilidad
34	Sp	Especificidad
35	SxCx	Servicios por concepción
36	TI	Tasa de incidencia
37	VPN	Valor predictivo negativo
38	VPP	Valor predictivo positivo

Introducción

En Colombia se han desarrollado escasos estudios de dinámica de enfermedades a nivel poblacional. Los departamentos de Córdoba, Caquetá, Santander y Pasto, son los lugares que mayores estudios epidemiológicos presentan. Una de las mayores limitaciones, está en la falta de información, debido a que no se realizan reportes o en muchos casos el número de muestras es insuficiente para representar una población. Por estas razones no se conoce la situación epidemiológica real de las enfermedades que afectan en general a los bovinos y en este caso particular las enfermedades que afectan la reproducción, siendo la muestra de leche, una opción ideal para el diagnóstico poblacional en nuestro país (Motta, Clavijo, García, & Abeledo, 2014; Motta et al., 2012, 2013; Oviedo, Betancur, Mestra, & González, 2007; Quevedo, Benavides, Cárdenas, & Herrera, 2011; A. Vargas, Vargas, Vásquez, Góngora, & Mogollón-waltero, 2018)

Desde mediados de 1980 los países europeos han utilizado las muestras de leche de tanque como alternativa a los muestreos serológicos, para evaluar el nivel de anticuerpos de los hatos lecheros como una forma de llevar a cabo vigilancia epidemiológica y medición de respuesta a programas de erradicación de enfermedades. No obstante, el principal atractivo tanto para productores como para médicos veterinarios, se debe a que esta muestra trae la gran posibilidad de determinar el estado de anticuerpos de un grupo de animales con una única toma (Pritchard, 2001, 2006).

La mayoría de diagnósticos con leche de tanque utilizan la prueba de ELISA indirecto, el cual es un método rápido y económico para el diagnóstico en un hato de una amplia gama de enfermedades como DVB, IBR, leucosis, tuberculosis, leptospirosis, salmonelosis, neosporosis, ostertagiosis, entre otras (Pritchard, 2006).

Hay muchos factores que afectan los títulos de anticuerpos específicos al agente en una muestra de leche de tanque. Es importante tener en cuenta que las muestras de leche en

tanque representan únicamente los animales lactando; también se debe considerar el número de animales en ordeño, la seropositividad de cada uno de los animales lactantes, el estadio de la infección en el hato, la etapa de la lactancia, la producción de leche y la enfermedad que se evalúa (Pritchard, 2006).

La respuesta inmune a infecciones se puede medir en leche, así como en suero; los anticuerpos aparecen primero en suero y la concentración de anticuerpos es aproximadamente 30 veces mayor en suero que en la leche; la inmunoglobulina predominante en la leche es la IgG1 que es transportada a través de los alveolos mamarios (Gapper, Copestake, Otter, & Indyk, 2007).

Con las mediciones de anticuerpos en leche en tanque se busca obtener información oportuna sobre el estado de exposición a un agente, dando un panorama amplio para un programa de vigilancia en salud de hato. La supervisión periódica, puede mostrar las tendencias y variaciones de los niveles de anticuerpos específicos; además puede ser una herramienta útil para medir incidencia o prevalencia (Chanlun et al. 2006).

El diagnóstico de anticuerpos en leche de tanque se puede utilizar ya sea cualitativamente, para detectar la presencia o ausencia de un patógeno en particular o también cuantitativamente para estimar la proporción de vacas seropositivas en un hato. Se debe tener en cuenta que un resultado positivo en muestras de leche no necesariamente se deba a una infección reciente, ya que en infecciones virales (DVB o IBR), los anticuerpos pueden persistir durante toda la vida del animal o también puede ser reflejo de vacunación reciente. Es importante remarcar que, desde el punto de vista poblacional, los resultados de leche en tanque son el reflejo aproximado del nivel de anticuerpos dentro de todo un hato, por eso siempre es aconsejable presentar una nueva muestra o un muestreo repetido antes de tomar una decisión, y siempre se debe comparar los resultados del test con el histórico de enfermedad dentro de la finca y los factores de riesgo. Además para fines de monitoreo o control, en especial en lugares libres de infección, se deben analizar muestreos por lo menos cada 3 meses dependiendo de las circunstancias individuales de cada lugar, que permitirán estar seguros del estado inmune del hato y conocer si las

prácticas de salud de hato implementadas están surtiendo el efecto deseado (Pritchard, 2001).

En Colombia el sector lechero, es muy importante, produce aproximadamente 7.000 millones de litros de leche por año, representando el 2,3% del producto interno bruto, teniendo un consumo de 145/litros por persona al año, generando más de 700.000 empleos directos. Los departamentos de mayor producción son Antioquia, Boyacá y Cundinamarca, teniendo un registro de 395.215 unidades o fincas productoras de leche y de estas, solo el 20% tiene más de 15 animales en producción. Evidenciando que la producción de leche en Colombia está dada principalmente por pequeños y medianos productores. La Provincia de Ubaté, ubicada en el departamento de Cundinamarca aporta el 17.8% de la producción de leche y el 33.1% es producida por lecherías tradicionales. La Provincia de Ubaté y los pequeños productores de leche se convierten en puntos de interés para conocer el estatus sanitario de la exposición a diferentes enfermedades bovinas que afecta la productividad del sector lácteo en Colombia

El objetivo de este proyecto fue evaluar la prevalencia, dinámica, análisis espacial y factores de riesgo asociados a la presentación de enfermedades que afectan la reproducción en la Provincia de Ubaté - Cundinamarca, usando muestras de leche, demostrando, como se expuso anteriormente, que esta muestra puede ser una alternativa ideal en nuestro país, para establecer un diagnóstico que involucre la mayor cantidad de la población, además de ser el primer estudio en Colombia usando muestras de leche para el diagnóstico de anticuerpos .

1. Capítulo

Descripción y epidemiología del uso de muestras de leche para el diagnóstico de anticuerpos de DVB, IBR, Leptospirosis y Neosporosis

Se han realizado diferentes estudios a nivel mundial, en los cuales se ha usado la muestra de leche para establecer la prevalencia y dinámica de enfermedades reproductivas como DVB, HVB-1, *N. caninum* y *L. hardjo*, entre otras. Los estudios reportan prevalencia para países que se encuentran o no en programas de erradicación, así como la determinación de puntos de corte que permiten establecer los niveles de posible infección o exposición y la dinámica de anticuerpos en el tiempo.

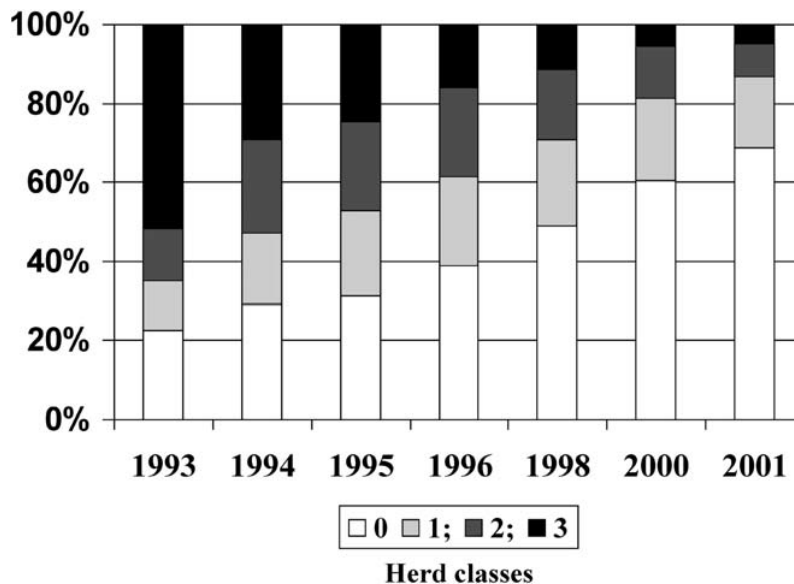
1.1 Diarrea Viral Bovina (DVB)

Es un virus de distribución mundial, del género Pestivirus, familia *Flaviviridae*, con dos genotipos (1 y 2), y dos biotipos (citopático y no citopático); la mayor presentación es de origen subclínico causando signos leves o inespecíficos. La infección transplacentaria puede conducir a aborto, defectos teratogénicos o nacimiento de animales inmunotolerantes denominados persistentemente infectados (PI). Estos animales eliminan gran cantidad de antígenos contribuyendo al mantenimiento de la infección en los hatos y por lo tanto, son el objetivo principal de control de esta enfermedad (Lanyon et al. 2014).

A continuación se citan estudios en los que se usó la muestra de leche para el diagnóstico de prevalencia de una población y la clasificación de los hatos según el nivel de exposición, para establecer programas de erradicación o conocimiento de la situación de la población frente a DVB, teniendo como punto central la detección y eliminación de animales PI.

Suecia fue el primer país en implementar un plan de erradicación y control voluntario de DVB siendo el país modelo para muchos otros países europeos. Inició con una seroprevalencia de 46% en 1993, y realizando los respectivos muestreos, medidas de eliminación y control, llegó a declarar el 92,5% de los hatos libres de DVB para el 2001. El programa se apoyó en muestreos semestrales de leche en tanque donde se observó el comportamiento de los hatos de 1993 a 2001 (Figura 1-1). Se logró mostrar los cambios en los hatos que pasaron de tener una alta prevalencia a hatos negativos o en menor nivel, que variaron en el tiempo debido a la intervención del programa de erradicación (Greiser-Wilke et al. 2003).

Figura 1-1 Programa de erradicación de DVB en Suecia. Resultados en leche de tanque usando un ELISA indirecto entre 1993 y 2001. Los hatos se categorizaron en tres niveles: en negro, los hatos con la posible presencia de PI; en gris oscuro, hatos con prevalencia moderada de seropositivos y gris claro los hatos con prevalencia leve y en blanco se encuentran los hatos considerados libres de PI. Modificado de Greiser-Wilke et al. (2003).



Suecia desarrolló una clasificación de los hatos que ha sido usada ampliamente por otros países tanto de Europa como de América, basada en los niveles de anticuerpos detectados

en leche de tanque (I. Greiser-Wilke et al. 2003). Según el modelo sueco se estableció una relación entre los niveles de anticuerpos dados por los niveles de densidad óptica (DO) y la prevalencia de vacas expuestas al virus. De acuerdo con estos resultados los hatos clasificaron en 4 opciones (Tabla 1-1).

Tabla 1-1 Clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica usado en Suecia para lograr establecer un nivel de prevalencia y posible presencia de animales PI. Modificado de Greiser-Wilke et al.(2003).

Clasificación del hato	Valores DO	Descripción
0	< 0.04	No hay contacto con PI
1	0.05-0.249	No hay contacto reciente con PI
2	0.25-0-549	Moderada prevalencia de animales seropositivos
3	≥ 0.56	Hato con presencia de PI

Países como Perú, Irán, Escocia y Brasil han utilizado el anterior modelo (Tabla 1-2).

Tabla 1-2 Prevalencia y clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica en Perú, Irán, Escocia y Brasil, usando el modelo sueco, para establecer niveles de prevalencia y posible presencia de animales PI en los hatos nivel 3.

País	año	# hatos	Prevalencia	0	1	2	3
Perú	1998	60	96%	8%	20%	45%	27%
Irán	2006	38	93,98%	5,26%	21,05%	21,05%	52,63%
Escocia	2008	374	73%	12.7%	22.3%	44.5%	20.5%
Brasil	2009	300	43%	57%	22,3%	10.30%	10%

En el Valle de Mataro (Perú) utilizaron el sistema sueco y además categorizaron los hatos de acuerdo a su tamaño; se reportó una prevalencia al virus de DVB del 96%, hallando al 27% de los hatos en nivel 3; en este nivel se localizaron principalmente los hatos más grandes (> 30 vacas en ordeño), que presentaban mayor movilización y compra de animales de remplazo (Rivera et al. 2002).

En Mashhad (Irán), la segunda provincia de mayor producción láctea de este país, se evaluaron 38 hatos lecheros especializados con ganado raza Holstein, sin manejo de

vacunación contra DVB. Se encontró una prevalencia del 93,98% con el 52,63% de los hatos en nivel 3 y de éstos, el 78% presentaron una DO >0.80, sugiriendo la presencia de animales persistentemente infectados (Garoussi et al. 2008).

En Escocia se encontró una prevalencia del 73% en 374 hatos muestreados y el 20.5% estuvieron categorizados en nivel tres. Los factores de riesgo asociados a los altos niveles de anticuerpos fueron vacunación, la sospecha de animales positivos a DVB dentro del hato, la presencia de vacas preñadas con un posible PI y hatos de mayor tamaño. Este estudio permitió iniciar un plan de erradicación de DVB; en el 2011 empezaron a evaluar todos los hatos y se eliminaron los animales seropositivos y los persistentemente infectados. Para el 2012 comenzaron a usar las muestras de leche de tanque para establecer una prevalencia y línea base, que les permitió evaluar si el plan de erradicación estaba funcionando y qué factores de riesgo estaban asociados a la presentación de anticuerpos en las fincas lecheras, demostrando la utilidad de la muestra de leche como un sistema de diagnóstico y vigilancia epidemiológica (Humphry et al. 2012).

En la región Rio Grande del Sur (Brasil), segunda zona de mayor producción lechera del país, se realizó un estudio transversal para identificar los factores de riesgo en 300 hatos lecheros. Se encontraron 129 hatos positivos a la prueba (43% prevalencia) y 10% de estos hatos en nivel 3, siendo una de las menores prevalencias reportadas a nivel mundial. Los autores atribuyen este resultado a que estos hatos tienen en promedio ocho vacas en ordeño y a que la producción se da en un sistema semi-intensivo con pasturas divididas por cercas, teniendo menor probabilidad de recirculación del virus que en sistemas intensivos y estabulados. Además, los hatos que usaban inseminación artificial tuvieron 2.82 veces más probabilidad de ser positivos a DVB. Los autores sugieren que el virus puede ingresar a las explotaciones a través de los técnicos o inseminadores por medio de su ropa o implementos de trabajo ya que el semen utilizado en esta zona proviene de centrales de inseminación acreditadas (Almeida et al., 2013).

1.1.1 Vacunación

La vacunación puede ser un factor de confusión para la interpretación de pruebas serológicas, ya que puede haber interferencia entre los hatos infectados y los vacunados. Inclusive, algunos países escandinavos en plan de erradicación han prohibido el uso de la vacunación (Greiser-Wilke et al., 2003). No obstante, la vacunación es una herramienta de apoyo para la bioseguridad que ha sido empleada en países como Irlanda o España, presentando esta herramienta, un nuevo reto para la interpretación de las pruebas de leche en tanque.

En Somerset (Inglaterra) se inició un plan piloto para la erradicación de DVB, con 41 fincas. De éstas, solo se logró obtener suficientes muestras para hacer seguimiento de 14 fincas. Se tomaron muestras de sangre en cohorte de animales jóvenes mayores de 9 meses, para serología individual y muestras de leche de tanque cada trimestre. En este programa se utilizó una clasificación diferente propuesta por Pritchard (2001) y se realizó una categorización adicional de los hatos para evaluar el efecto de la vacunación (Tabla 1-3):

- Categoría 1: Hatos vacunados, sin presencia de animales PI
- Categoría 2: hatos no vacunados, sin presencia de PI
- Categoría 3: Hatos vacunados con presencia de PI

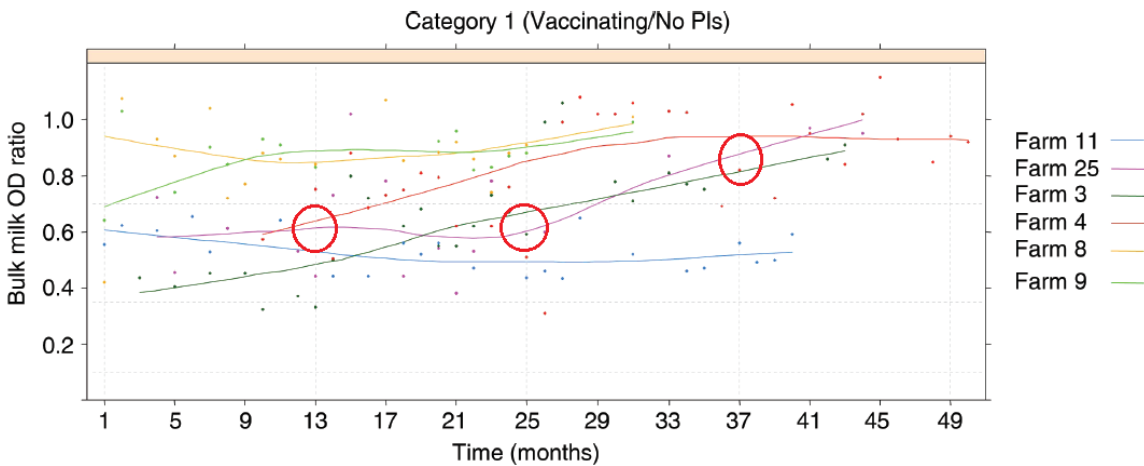
Tabla 1-3 Clasificación de los hatos según los valores de Densidad Óptica tomado de P, 2001 donde se clasifican los hatos de negativo a alto, teniendo un porcentaje de probable prevalencia para cada nivel.

Clasificación	Nivel de prevalencia	DO	# hatos
Negativo	< 0	< 0.1	77
Bajo	0 - 5%	0.1 – 0.35	18
Medio	5% - 65%	0.35 – 0.7	169
Alto	> 65%	>0.7	61

En esta última categoría todas las fincas, a excepción de una, vacunaron con biológicos con virus inactivado (Pregsure BVD® - Zoetis, y Bovilis BVD® - SD Animal Health). El

análisis reveló una diferencia significativa ($p < 0.001$), entre las categorías, concluyendo que los protocolos de vacunación afectan los resultados de la muestra de leche en tanque. Las fincas en la categoría 1 (Fincas vacunadas y sin PI) muestran cambios anuales en el radio de la densidad óptica (DO) de las muestras de leche (Figura 1-2) que coinciden con los periodos de vacunación en los meses 13, 25, 36. Un ejemplo de ello es la finca # 25 que se encuentra representada con la línea morada y los periodos de la vacunación en círculos rojos.

Figura 1-2 Hatos categoría1: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos vacunados sin la presencia de animales PIs. Muestra el aumento en la DO, que se presenta en los meses 13, 25 y 37, que se da después de la vacunación. Tomado de Booth, Cranwell, & Brownlie, (2013).



La categoría 2 (Fincas no vacunadas y sin PI), fueron fincas que iniciaron en una categoría media positiva y disminuyeron sus títulos gradualmente (Figura 1-3). Se toma de ejemplo la finca 24 que inició con DO de 0,354 y en 44 meses disminuyó a 0.01, categoría negativa. Estos cambios a través del tiempo son debidos probablemente a descartes de animales positivos o a la lenta disminución de anticuerpos de forma individual, demostrando por otra parte, que un hato libre de enfermedad necesita aproximadamente 3,5 años para disminuir la cantidad de anticuerpos y llegar a una categoría negativa.

Las fincas en categoría 3 (vacunadas y con PI), mantuvieron un nivel alto de anticuerpos durante todo el estudio, debido a la exposición de animales PI, que dispersan el virus en

la finca, manteniendo los niveles de anticuerpos siempre altos por la infección de animales que eran sanos (Figura 1-4).

Figura 1-3 Hatos categoría 2: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos que no vacunan y sin animales PI. Se observa la disminución en la DO de los hatos por la disminución de anticuerpos de memoria al no tener contacto con animales infectados. Tomado de Booth et al., (2013).

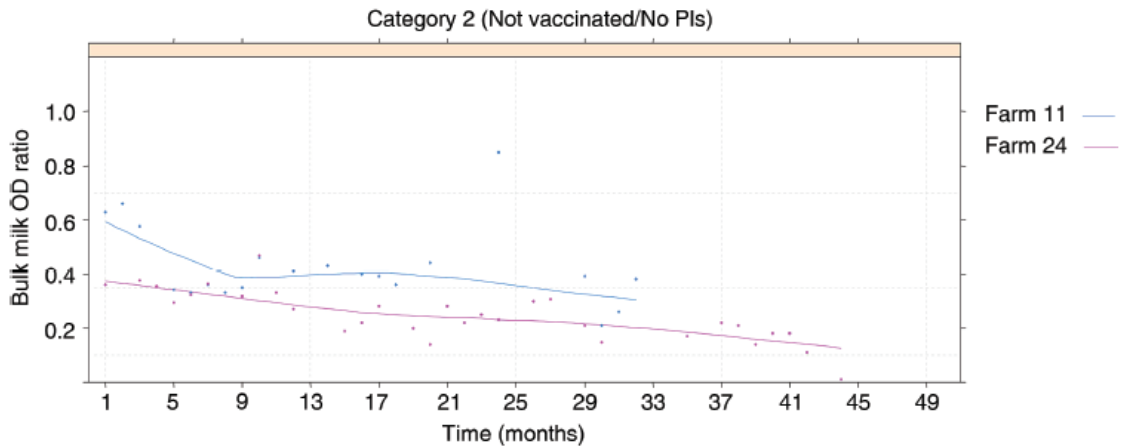
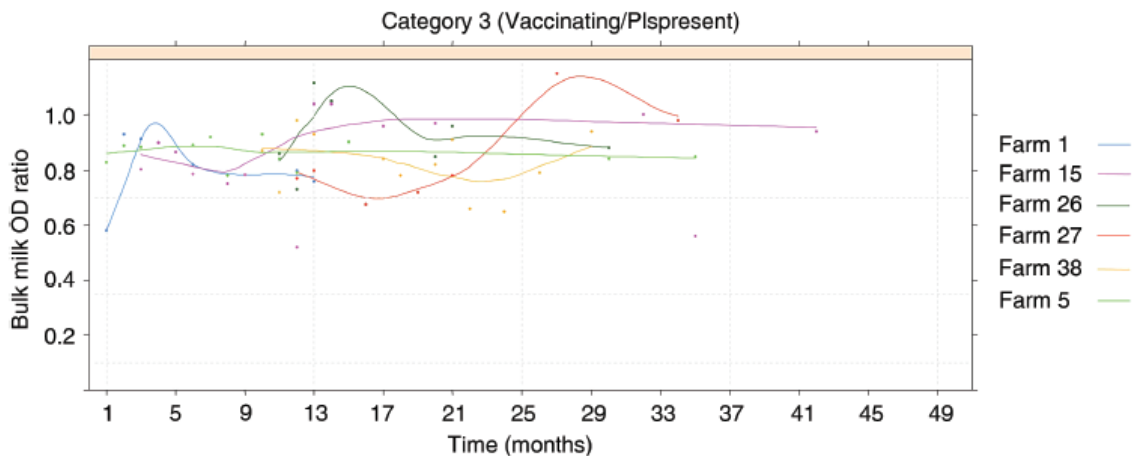


Figura 1-4 Hatos categoría 3: Muestras en leche de tanque en 49 meses de hatos vacunados y con animales PI presentes. Se observa un nivel alto de DO, debido a la presencia de anticuerpos vacunales y por la presencia de animales PI; algunos aumentos se pueden relacionar con la entrada de animales infectados al ordeño cuando se tomó la muestra de leche. Tomado de Booth et al. (2013).



Para hatos con alta prevalencia de DVB, los autores recomiendan acompañar la prueba de leche, con pruebas serológicas de animales jóvenes mayores a 9 meses y realizar muestra de leche haciendo una cohorte de vacas de primer parto, para poder diagnosticar

animales jóvenes positivos y detectar hembras que están ingresando a ordeño como posibles PI. De esta forma se puede detectar en qué grupo etéreo se encuentran los animales seropositivos, facilitando su control o eliminación.

Los resultados de la pruebas siembre deben analizarse con precaución, debido que se puede confundir un hato con infección activa con un hato vacunado; por esta razón es importante incluir siempre la historia sanitaria de cada hato antes de tomar una decisión (Booth et al., 2013; Pritchard, 2001).

La muestra de leche en tanque también es una prueba muy útil para el monitoreo de hatos negativos, debido que al hacer muestreos periódicos (trimestralmente), sirve como alarma al momento de indicar un cambio en los niveles de anticuerpos (Pritchard, 2001).

La muestra de leche debe acompañarse de otras pruebas, debido a que la leche en tanque solo tiene en cuenta a los animales adultos lactantes con intervalo de 3 meses; para ellos, se realizan muestreos individuales en sangre de animales entre 9 y 18 meses, evaluando presencia de anticuerpos; si estos animales aún no han sido vacunados y presentan seropositividad es por que posiblemente se han infectado por un animal PI (Greiser-Wilke et al., 2003).

1.1.2 Identificación de animales Persistentemente infectados

El diagnóstico de animales PI, es un punto álgido para el control de la DVB, debido a que estos animales, tienen la particularidad que excretan grandes cantidades de partículas virales, siendo un foco de infección y perpetuación de la enfermedad dentro del hato, es por ello que su diagnóstico para su consecuente eliminación, es un punto de interés, por ello, actualmente la prueba de ELISA en tanque se está acompañando de la prueba PCR, que detecta el ARN del virus; de esta forma se puede confirmar la presencia de animales PI en los animales de ordeño y diferenciar la presencia de anticuerpos vacunales o de memoria de una infección activa (Booth & Brownlie, 2016; Pritchard, 2001, 2006).

En Inglaterra y Gales, en el programa de erradicación durante el 2006 y 2007, se seleccionaron 26 hatos (23 de producción de leche y 3 carne); se tomó muestras de leche de tanque para diagnóstico por ELISA y PCR y muestras individuales de sangre de al menos 10 animales entre los 9 y 18 meses para la detección de anticuerpos por ELISA. Al usar estas muestras se puede tener diferentes interpretaciones:

- Muestra en tanque ELISA negativa y muestra en tanque PCR negativo: hato probablemente negativo; se debe hacer un muestreo individual de animales jóvenes para confirmar.
- Muestra en tanque ELISA positiva y muestra en tanque PCR negativo: anticuerpos de memoria presentes o vacunación.
- Muestra en tanque ELISA positiva y muestra en tanque PCR positiva: hatos con una infección activa; se debe hacer muestreo de todos los animales de forma individual o por cohortes en leche para la detección de animales PI (Booth & Brownlie, 2016; Pritchard, 2001).

1.2 Rinotraqueitis Viral Bovina

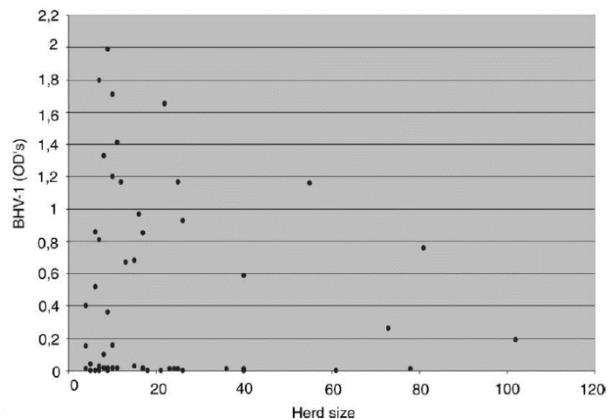
La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) es ocasionada por Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1) involucrado también con Vulvovaginitis y Balanopostitis Pustular Infecciosa. Es causal de aborto así como de enfermedades respiratorias, neurológicas y sistémicas en el ganado; el virus es endémico en todo el mundo (Ackermann & Engels, 2006).

El gran problema con el manejo de esta enfermedad se debe a que el virus establece latencia de por vida y puede ser reactivado cuando el huésped está ante situaciones de estrés. Por esta razón, muchos países han tomado la opción de vacunar, ya que se disminuye la presentación de los signos y la propagación de esta enfermedad ante la dificultad de eliminar los animales positivos. Debido a que las pruebas diagnósticas, no distinguen entre los anticuerpos vacunales de los producidos por la infección, el uso de leche en tanque en HVB-1 no ha tenido el mismo impacto como en DVB (Raaperi et al. 2014).

La cantidad de animales dentro de un hato, puede ser determinante para la presentación de enfermedades de contacto como es el caso de IBR (HVB-1); a continuación se presentan estudios para establecer si se presenta o no una influencia de este factor.

En el mismo estudio realizado para DVB en Perú, se encontró una prevalencia del 51% para HVB-1, usando una prueba de ELISA indirecto en leche. Se encontró una asociación inversa, entre los niveles de DO y el tamaño de la finca, siendo mayor en hatos pequeños (Figura 1- 5); probablemente se debe a que la presencia de un animal seroreactivo presenta un nivel de dilución menor en hatos pequeños (Rivera et al. 2002).

Figura 1-5 Relación entre el nivel de DO de IBR y el tamaño del hato. Se encuentra mayor DO en hatos de menor tamaño, debido probablemente a que son hatos donde hay una menor dilución de la muestra de leche. Tomado de Rivera et al.(2002).



En fincas de gran tamaño, el número de vacas en ordeño es un factor importante debido a que la leche de tanque sólo se registra como "positiva" cuando un mínimo de 10 a 15% de los animales en un hato son positivos. Según la Comisión Europea, para determinar el estado libre de un hato lechero se requieren tres muestras de leche de tanque, tomados en intervalos de al menos tres meses, con una dilución máxima de 50 vacas en ordeño y que su resultado siempre sea negativo (Raaperi et al. 2014).

En Irlanda, se realizó un estudio para establecer asociaciones entre la producción de leche, el rendimiento reproductivo, la mortalidad embrionaria y la presencia de anticuerpos en muestras de leche de tanque de 305 hatos. La producción de leche menor a 250,9 Lts/ año

en vacas multíparas ($P=0,042$), leche con menos densidad de grasa de 11 Kg/vaca por año ($P=0.033$) y el aumento en CCS (conteo de células somáticas) en vacas de primer parto del 12,9% (0,055), estuvo asociada con la presencia de anticuerpos en las muestras de leche en tanque. Estos resultados sugieren que el IBR afecta la calidad de la leche, ya que se ha demostrado que el virus se replica en la ubre causando necrosis del epitelio alveolar e infiltración de polimorfonucleares y mononucleares produciendo mastitis y consecuente reducción en la producción y en la calidad de la leche (Corner, Greig, & Hill, 1967; Murphy & Hanson, 1965; Sayers, 2017; Wellenberg, Van Der Poel, & Van Oirschot, 2002).

El uso de vacunas con marcadores en las que se elimina la glicoproteína (gE) que está presente en la envoltura del virus, puede facilitar la diferenciación de animales vacunados y no vacunados. Los animales infectados mostrarán anticuerpos anti-gE, mientras que los inmunizados serán negativos. En Holanda se realizó un estudio evaluando la eficiencia de la muestra de leche frente a la muestra de suero para el diagnóstico de animales inmunizados con esta vacuna modificada; se tomaron muestras de leche y sangre de cuatro hatos certificados libres de HVB-1 ($n= 5155$ vacas), cuatro hatos con infección histórica a HVB-1 ($n=5203$ vacas) y cuatro hatos que tuvieron brotes de HVB-1 y se vacunaron en dos ocasiones con vacuna atenuada, gE negativa ($n=5111$). Se usó una prueba ELISA de bloqueo y un ELISA indirecto para gE; esta última prueba buscaba la presencia de anticuerpos gE presentes en los sueros de animales infectados o vacunados con biológicos convencionales en los que no se ha hecho delección de la glicoproteína gE. Como prueba de referencia se realizó seroneutralización viral. Los resultados tanto en leche como en sangre para las dos pruebas y la seroneutralización fueron negativos para las muestras de hatos libres del virus.

En los hatos positivos sin vacunación, se encontraron 45/56 animales positivos por el ELISA de bloqueo (Se 84,9% y Sp 100%) y 51/56 por el ELISA (Se 92,4% y Sp 98,7%) indirecto en muestras de sangre (Wellenberg, Verstraten, Mars, & Oirschot, 1998). Al comparar la leche con el suero, se encontró una positividad de 46/45 muestras positivas (1 muestra de diferencia para la prueba en leche) para la prueba de bloqueo y 39/51 para la prueba indirecta con una Se 98% y 68% para el ELISA de bloqueo y el indirecto respectivamente.

En los hatos que vacunaron, 111 fueron positivos a seroneutralización, que indica exposición al virus o a la vacunación, debido a que esta prueba no puede diferenciar entre anticuerpos por vacunación o infección; mientras que la prueba ELISA, hace una diferenciación entre respuestas de exposición o inmunización, debido a que las vacunas contra HVB-1 no tienen la proteína viral gE, que es la detectada por esta prueba, permitiendo diferenciar los hatos vacunados de los que presentan animales positivos. ; debido a ello, se logró diagnosticar con el ELISA de bloqueo, 68 resultados seropositivos y 64 fueron positivos en la leche; y con el ELISA indirecto, se hallaron 69 muestras seropositivas y 59 positivas en leche, teniendo una Se 94% y 86% respectivamente para cada prueba. Se concluye que la leche, a pesar de tener menor concentración de anticuerpos que el suero, aproximadamente 30 veces menor, se puede medir la diferencia entre respuesta inmune a infecciosa, usando la prueba ELISA (Gapper et al. 2007); siendo útil para el diagnóstico de HVB-1. Por el contrario la seroneutralización no hace un diagnóstico específico en contra de la glicoproteína gE y no permite distinguir entre animales vacunados con marcadores, de animales no vacunados (Wellenberg et al., 1998).

La muestra de leche es útil para el diagnóstico de HVB-1, recomendando muestreos repetidos en el tiempo con un intervalo de 3 meses una dilución no mayor a 50 vacas en ordeño; además para evitar la interferencia de la vacunación en el diagnóstico, se han creado biológicos con marcadores y pruebas adaptadas a éstos, que han facilitado el diagnóstico de la enfermedad y su control.

1.3 Neosporosis

El parásito protozoario *Neospora caninum* es una causa importante de aborto en el ganado vacuno en todo el mundo, siendo el bovino un hospedero intermediario. La transmisión está dada por la contaminación del alimento y agua de bebida con heces de carnívoros infectados (hospedero final) y de forma congénita, que es una fuente importante en el mantenimiento de la infección dentro de los hatos. Al consumir el alimento contaminado, se liberan los esporozoitos, que penetran las células de la mucosa del intestino y en su

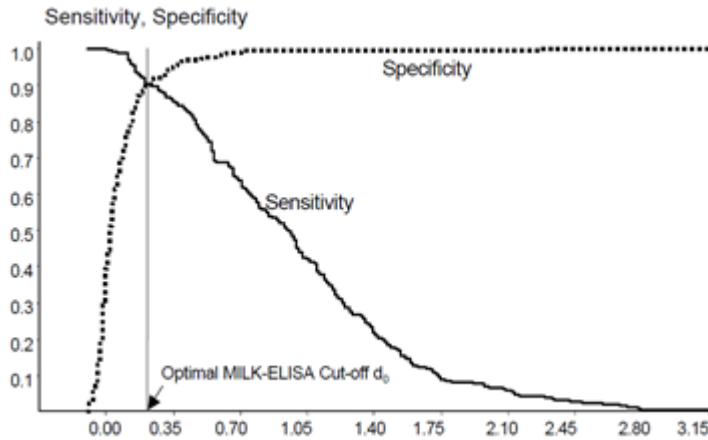
citoplasma se convierte en taquizoito, fase en la que es capaz de migrar a otros tejidos, como la placenta y el feto, multiplicándose, generando daños a los tejidos. Las vacas infectadas de cualquier edad gestacional pueden abortar siendo la etapa más frecuente entre 5 - 6 meses de gestación. Se pueden presentar pérdidas gestacionales tempranas y tardías, momificaciones, mortinatos, nacidos vivos con signos clínicos, o nacidos clínicamente normales pero congénitamente infectados (Dubey & Schares, 2006).

A diferencia de otras enfermedades, no ha sido fácil establecer una relación directa entre los niveles de densidad óptica y los niveles de prevalencia de neosporosis en un hato, o a nivel individual, la cantidad de anticuerpos y su resultado en la prueba ELISA. Un ejemplo es el estudio realizado por Chanlun et al. (2002), en el norte y noreste de Tailandia donde se evaluaron 220 muestras de leche de tanque de 9 centros de acopio, en hatos pequeños (10 a 20 vacas en ordeño). Encontraron una prevalencia del 46%, la cual varió de acuerdo con la región muestreada. En el mismo estudio, se analizaron 11 hatos, comparando los niveles de anticuerpos de las muestras de leche de tanque con los niveles de anticuerpos en serologías individuales; sin embargo, no se pudo establecer una asociación entre absorbancia y seroprevalencia. Los autores atribuyen esta variación no sólo a la proporción de vacas infectadas, sino también a los niveles de anticuerpos por individuo, la etapa de lactancia y la producción de leche.

Debido a que comercialmente no existe una prueba ELISA específica para el diagnóstico de neosporosis en leche, se han usado pruebas ELISA para el diagnóstico en suero, tomando la muestra de leche y estableciendo un punto de corte adecuado para esta muestra. En Alemania se tomaron 791 muestras individuales de leche y de suero de hatos (n=13) clasificados con enfermedad epidémica (n=5) y endémica (n=3) de abortos asociados a *Neospora caninum* y hatos con historia de abortos sin asociación a *Neospora caninum* (n=5). Ambas muestras fueron evaluadas con una prueba comercial (IDEXX®), usando las instrucciones del fabricante para correr las muestras de suero; para leche se usó la muestra sin diluir y dilución de 1:2 y 1:3. Al evaluar la correlación entre los resultados en suero y leche, se logró establecer una relación lineal. La dilución que presentó mayor correlación fue 1:2 con $R^2 = 0,74$. Haciendo un análisis ROC se logró establecer el punto de corte en 0,261 con una Se y Sp del 90% (Figura 1-6). Se encontró un excelente acuerdo entre los resultados de leche y suero con un Kappa de 0,8. Sin embargo, al comparar los resultados de leche con los animales que abortaron se encontró un acuerdo moderado de

0,551, probablemente debido a que en leche se encuentra una menor concentración de anticuerpos que en sangre (Schaes et al., 2004).

Figura 1-6 Resultado de la curva ROC para determinar el punto de corte adecuado para el kit ELISA HerdChek anti-neospora de IDEXX. Se establece con una dilución de 1:2, el punto de corte en 0,261 con una Se y Sp del 90%. Tomado de Schaes et al., (2004).



En Canadá se realizó un muestreo en leche de aproximadamente 235 fincas, en tres ocasiones diferentes entre el año 2004 y 2005; se tomó como referencia la prevalencia del 15% con punto de corte de 0.6 (Bartels, Van Maanen, Van Der Meulen, Dijkstra, & Wouda, 2005). Se encontró una prevalencia de 6.4%, 10.1% y 10.2%, respectivamente para cada muestreo. Evaluando la relación entre el punto de corte (Tabla 1-4), que afirma que al 0.6 se encuentra una prevalencia del 15%, se realizó un cuarto muestreo en septiembre de 2005, tomando muestras individuales de sangre de cada vaca que aportó a la muestra de leche de tanque de 11 hatos positivos. Diez de los 11 hatos se clasificaron correctamente; los 5 primeros hatos que se observan en la tabla, están por debajo del punto de corte 0.6, y presentaron una prevalencia menor al 10%; mientras que los siguientes hatos, presentaron prevalencias por encima del 15% y un punto de corte mayor; el hato que se clasificó de forma errónea (hato 6) en uno de los anteriores muestreos presentó un resultado sobre el punto de corte 0.6. Este error se debió probablemente, a fallas en técnicas de laboratorio pero seguramente se corrige al hacer muestreos repetidos (Wapenaar, Barkema, O'Handley, & Bartels, 2007).

Tabla 1-4 Comparación de los resultados de suero y leche de tanque de 11 hatos de un ELISA para *N. caninum*. Se observa que todos los hatos con un punto de corte < 0.6, presenta una prevalencia menor al 15% con excepción del hato 6, debido probablemente a error de laboratorio. Tomado de Wapenaar, Barkema, O'Handley, & Bartels, (2007).

Hato	ELISA en Leche de tanque: Radio S/P				ELISA sueros de vacas: prevalencias		
	May'04	May'05	Jun'05	Sept'05	Prevalencia (%)	# de vacas positivas	Total # de vacas
1	0.04	0.25	0.64	0.15	1.3	1	77
2	0.34	0.82	0.62	0.25	5.7	2	35
3	0.85	0.28	0.31	0.40	1.5	1	66
4	0.61	0.28	0.33	0.41	5.6	4	72
5	0.50	0.47	0.64	0.41	9.8	4	41
6	0.65	0.21	0.14	0.50	15.4	4	26
7	0.43	0.70	0.65	0.67	17.5	7	40
8	0.67	0.54	0.34	0.78	17.9	7	39
9	0.42	0.64	0.64	0.99	27.4	23	84
10	0.55	0.69	0.60	1.00	30.6	22	72
11	0.14	1.01	0.75	1.09	17.9	12	67

En otro estudio, se buscó establecer asociación entre infección por *N. caninum* y el riesgo de aborto, días abiertos y la producción de leche en Galicia (España). Se evaluaron 38 hatos con prevalencias entre 0 a 69% por serología, en los que se tomaron muestras individuales y de leche en tanque; además se recolectó la información de inseminación artificial, seguimiento de la gestación, partos, nacimientos y mortinatos. Se reportó una prevalencia de 84,2% (32/38), y una correlación positiva ($R^2:0,76$ $P <0,001$) entre las muestras de leche de tanque y las vacas seropositivas; esta correlación aumentó a 0,84 ($P <0,001$) al comparar los resultados de leche de tanque con vacas con seropositividad alta (> 70%). De esta forma, la prueba detectó 18/19 hatos con prevalencia mayor al 10% y 5/13 hatos que tienen una prevalencia menor del 10%. Se encontró una posibilidad mayor de presentar abortos en leche de vacas positivas (OR: 9.1 IC 95%: 5.2-15.8) y no se encontró relación con la etapa de lactancia.

En otro grupo de ese mismo estudio, se evaluaron 387 hatos del programa de Mejora del Hato Lechero. Se encontró una asociación negativa entre prevalencia de Ac en leche y la producción promedio del hato ($P < 0,001$). Las fincas altamente positivas (prevalencia mayor al 20%) presentaron 1,6 kg/ día por vaca menos que los otros hatos (González, Astro, Carro, & Mezo, 2011).

A pesar de que comercialmente no existe una prueba ELISA para el diagnóstico de neosporosis en leche, se ha logrado establecer puntos de corte, que han permitido hacer el diagnóstico de la enfermedad, mostrando que es una prueba muy sensible, en especial en lugares donde hay una prevalencia mayor al 15% y se ha logrado relacionar los resultados en leche con factores de riesgo que favorecen o indican la presencia de la enfermedad en una finca o en una región.

1.4 Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica de gran importancia económica debido a que su infección produce abortos y caída de la producción láctea, además de ser una enfermedad zoonótica. Los bovinos son huéspedes de mantenimiento para la *Leptospira* perteneciente al serotipo *hardjo*, de los cuales hay dos especies: *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* (prajitno) y *Leptospira borgpetersenii* serovar *hardjo* (bovis) (Levett, 2001).

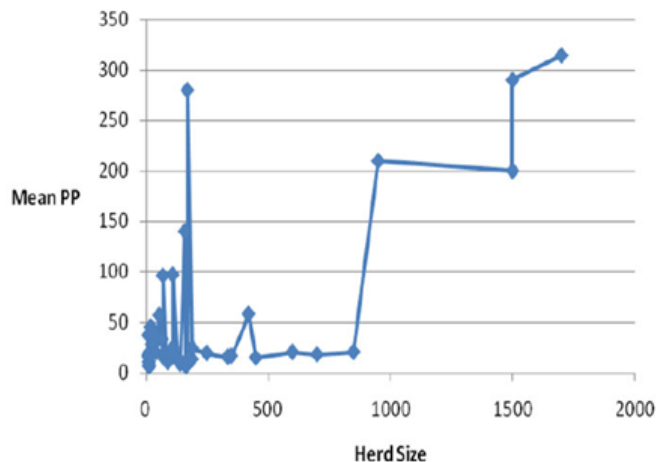
En un estudio realizado en cuatro provincias de Irlanda (Tabla 1-5), se encontró una prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira hardjo* del 79% (273 hatos) en muestras de leche de tanque. Se encontró una relación directa entre la probabilidad de ser seropositivo y el tamaño del hato ($P < 0,01$). Las categorías que contaban con más de 30 bovinos, presentaron un mayor número de hatos con un punto de corte por encima de 60% (PP 60), entre el 79% al 90% presentaron este resultado, mostrando probablemente que los hatos de mayor cantidad de animales, pueden tener una mayor prevalencia serológica de animales expuestos, posiblemente debido al hacinamiento que aumenta el contacto entre animales y permite que la infección persista por periodos más largos en estos hatos (Leonard, Mee, Snijders, Mackie, & Elisa, 2004).

Tabla 1-5. Categorización de los hatos según su tamaño y número de hatos que se presentan dentro de cada categoría sobre PP (porcentaje de positividad) > a 60, se observa que a mayor es la cantidad de animales en cada hato, mayor es la probabilidad de estar en un alto PP, teniendo mayor presentación en hatos como más de 30 animales Modificado de Leonard et al.,(2004).

Categoría	N° de hatos	Media del tamaño del hato	Media del PP	N° de hatos con PP>60 (%)
10 - 30	79	25	62.8	54 (68)
31 - 60	198	44	72.4	157 (79)
61 - 99	52	76	80.2	47 (90)
>100	9	110	81.4	8 (89)

En otro estudio similar realizado en 47 hatos en Mashhad (Irán) se encontró una seropositividad del 19,15% a *L.interrogans hardjo*, ratificando una relación directa entre el tamaño del hato y la seropositividad ($R^2=0.708$, $P < 0,05$) (Figura 1-7).

Figura 1-7 Relación entre el tamaño de hato y el promedio de porcentaje de positividad ($R^2=0.708$ y $P < 0,05$), mostrando que los hatos de mayor tamaño tiene una tendencia a tener mayor seropositividad. Tomado de Tabatabaeizadeh, Tabar, Farzaneh, & Seifi, (2011).



En el sudeste de Polonia se tomaron muestras de 309 hatos sin vacunación entre el 2010 y 2011 y se clasificaron los hatos dependiendo de su tamaño: ≤ 50 , 51-100, 101-500 y > 500 vacas. Se identificó una prevalencia general de 3.2%; los hatos de mayor prevalencia tenían entre 51 -100 y 101- 500 animales con valores de 4.6 % y 4.1% respectivamente (Tabla 1-6). Los hatos fueron clasificados según Pritchard (2001), en la cual se categorizan los hatos dependiendo de la DO, en negativos ($DO < 0.07$ - seroprevalencia $< 2\%$), bajo positivo ($DO 0.07$ a 0.40 - seroprevalencia 2 a 10%), medio positivo ($DO 0.40$ a 0.70 - seroprevalencia 10 a 30%), y alto positivo ($DO > 0.70$ - seroprevalencia $> 70\%$). La mayoría de los hatos de este estudio, se encontraron en la categoría bajo positivo, sugiriendo que no se presenta una infección activa, o que los animales positivos estaban en el horro o que hubiera un posible cruce con cepas de leptospira, diferentes a *L. hardjo*. Además, no se encontró asociación entre el tamaño del hato y la seropositividad ($p = 0.544$), debido probablemente a la baja prevalencia encontrada (Krzysztof & Bierowiec, 2014).

Tabla 1-6. Prevalencia para *L. hardjo* de acuerdo tamaño del hato según la clasificación de Pritchard (2001). Se tuvo una prevalencia general del 3.2% y la mayoría de hatos se clasificaron dentro del grupo de baja prevalencia debido probablemente a pocos animales positivos o que los animales infectados se encontraban fuera del ordeño. Modificado de Krzysztof & Bierowiec (2014).

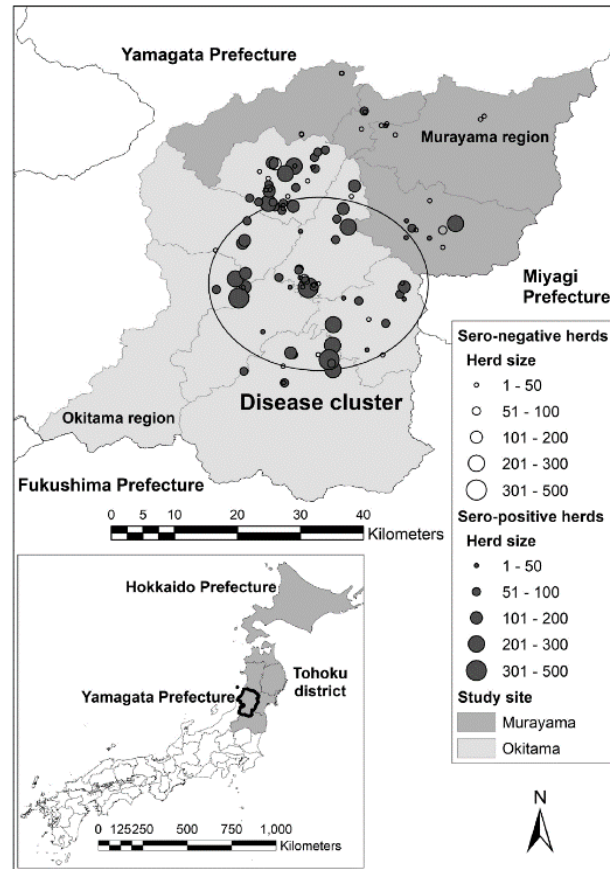
Categoría	N° de hatos	Media del tamaño del hato (DE)	Media de vacas lactando en el hato (DE)	Media del PP (DE)	Distribución del número de hatos dependiendo del radio PP		
					B*	M*	A*
10.-50	208	24.8 (0.76)	19.7 (0.71)	32.8(5.46)	4	1	-
51-100	43	70.9 (2.08)	60.9(2.05)	80 (0.0)	2	-	-
101-500	48	246.3(16.58)	217.2(15.28)	375 (125)	2	-	-
>500	10	800.5(99.82)	691.8(85.64)	800 (no)	1	-	-

DE: Desviación estándar, B: Bajo positivo, M:Medio positivo, A:Alto positivo

En Yamagata, Japón se encontró una prevalencia de 65.1% (IC 95%: 56.2-74.1%) a *L. hardjo*. Los factores de riesgo asociados a la seropositividad fueron los hatos de mayor tamaño con un promedio de 60 vacas ($p=0.004$) y bovinos que provenían de la población de Hokkaido ($p < 0.001$), que es la región de mayor producción de leche de Japón y provee de animales a muchas zonas del país. Por esta razón, el autor recomienda el uso de vacunación o mejorar las prácticas de bioseguridad de vacas que provengan de esta zona; la presencia de gatos ($p < 0.05$) se presentó como protección. Los hatos grandes no tenían la presencia del gato debido probablemente a normas de bioseguridad, pero se asocia la presencia del gato como una opción preventiva para evitar la contaminación del alimento con orina de roedores. Además, se realizó un análisis espacial (Figura 1-8), encontrando un clúster con un radio de 13.7 km ($p < 0.01$) perteneciente a la parte sur donde se encuentran los hatos de mayor tamaño y densidad. La producción láctea no presentó asociación a la presencia de anticuerpos (Miyama, Watanabe, Ogata, Urushiyama, & Kawahara, 2018).

Figura 1-8 Análisis espacial: Clúster de un radio de 13.7 km ($p < 0.01$) en Yamagata, Japón con una prevalencia de 65.1% a *L. hardjo*, donde se encontró mayor riesgo ($p=0.004$) de

encontrar animales positivos en hatos con más de 60 animales. Tomado de Miyama et al., (2018).



La muestra de leche para *Leptospira hardjo*, ha permitido hacer el diagnóstico de hatos con bajas y altas prevalencia, encontrando mayor predisposición a la presentación en hatos de mayor tamaño; además la muestra ha permitido establecer niveles de infección que permiten orientar a los productores respecto a la probable seroprevalencia que hay en cada explotación. Además, se puede unir los resultados de leche para esta o cualquier otra enfermedad a bases de datos geográficas que permite evaluar la exposición y factores que influyen la presentación de enfermedades, como por ejemplo, la mayor probabilidad de presentación por zonas o en lugares de mayor densidad.

1.5 Estudios de dinámica y prevalencia

La muestra de leche representa la población de animales que ingresan al ordeño al momento que fue tomada. Sin embargo, esta población es dinámica debido a los partos y secados o animales que se enferman y que ingresan o no al ordeño; por consiguiente, los resultados de leche en tanque pueden variar y es por ello que se deben realizar muestreos periódicos para evaluar cambios del comportamiento de una enfermedad en un hato. A continuación, se presentan estudios con muestreo repetidos en el tiempo que evalúan la dinámica de algunas enfermedades reproductivas.

En un estudio prospectivo realizado en Tailandia, se evaluó el estatus de anticuerpos a *Neospora caninum* y los cambios de prevalencias a través del tiempo. Se tomaron muestras de leche de 418 hatos con 5 a 15 vacas en ordeño; se estimó la Se, Sp, VPN y VPP, determinando la densidad óptica ≥ 0.20 como punto de corte; se realizaron tres muestreos, donde los muestreos 1 y 2 se utilizaron como valor de referencia para predecir la variación respecto al tercer muestreo.

El 64.6% de los hatos mantuvo el mismo estatus durante los tres muestreos, mientras que el 35,4% varió a través del tiempo. De 159 hatos que se presentaron positivos durante los dos muestreos iniciales, el 84,3% de los hatos se mantuvo positivo al tercer muestreo, debido probablemente a que la principal transmisión de la enfermedad es de manera vertical, manteniéndose la infección durante largos periodos en un hato. De los 136 hatos que iniciaron negativos, el 86,1% continuó igual, posiblemente debido a que eran hatos cerrados. El estado variante del 35,4% de los hatos, se atribuye a venta o secado de animales positivos que estaban lactando (cambio de positivo a negativo) o el caso contrario, el ingreso de animales positivos al ordeño. De tal manera que la interpretación de un resultado de una sola muestra negativa no excluye al hato de tener la infección (Chanlun et al., 2006).

En un estudio realizado entre junio de 2004 y septiembre de 2005, en Chile, se tomaron tres muestreos consecutivos en 158 predios con más de 150 animales por hato. Se encontró una prevalencia del 5% en brucelosis, del 96% para DVB y del 76% para IBR (Tabla 1-7).

Tabla 1-7. Prevalencia de brucelosis, leucosis, DVB e IBR en una región de Chile en leche de tanque en tres periodos diferentes. Tomado de Felmer & Miranda, (2009)

Enfermedad	Fecha de muestreo		
	Jun - 03 (%)	Dic - 03 (%)	Sep - 04 (%)
Brucelosis	6	4	4
Leucosis	62	61	60
DVB	98	97	95
DVB (Clase 3)	37	44	19
IBR	77	80	77
IBR (Clase 3)	61	56	43

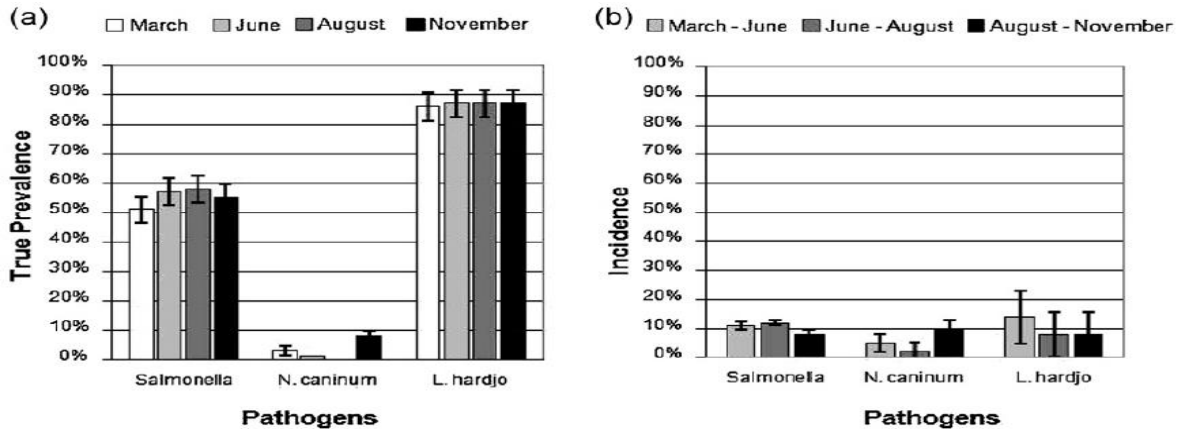
La brucelosis presentó una prevalencia del 4-6 %, mostrando que aún hay hatos positivos en la región, a pesar de que es una enfermedad de control oficial por parte del gobierno chileno.

Para DVB, debido a su alta presentación, se realizó una división de los hatos de acuerdo con el modelo sueco; en nivel 3 se encontró el 37, 44 y 19% de cada muestreo, sugiriendo una infección activa de la enfermedad y la probable presencia de PI. Sin embargo, se observa una disminución en el último muestreo, probablemente a causa de ingreso de fincas seronegativas. Al igual que en DVB, para IBR se reportaron altos niveles de anticuerpos en los tres muestreos (77, 80 y 77%), presentando una fuerte asociación con los rebaños donde hay mayor densidad de animales en ordeño, posiblemente asociado a los niveles de estrés dados por las condiciones de manejo y confinamiento (Felmer & Miranda, 2009).

En el 2009, en un estudio realizado en Irlanda, se estableció el nivel de prevalencia e incidencia a *N. caninum*, y *L. interrogans hardjo* utilizando una prueba de ELISA en leche de tanque. Se buscaron asociaciones entre la incidencia a cada patógeno, con la fecha del muestreo, la temporada de parto y región a la que pertenece el hato. Como se observa en la Figura 1-9, los resultados de prevalencia fueron altos para *L. hardjo*, y solo se encontró asociación entre la incidencia de *N. caninum* y fecha de la muestra ($p = 0,001$ OR = 3,10) debido a que los animales infectados con *N. caninum* a menudo sólo demuestran un aumento de anticuerpos detectables al final de la lactancia. Esto corresponde al aumento del riesgo de abortos asociados con *N. caninum* entre los cinco a ocho meses de

preñez (Dubey & Schares, 2006). Por lo tanto, el alto número de hatos positivos a *N. caninum*, se relacionó con el momento del muestreo, de agosto a noviembre, debido a que la mayoría de bovinos se encontraban en el último tercio de la lactancia, donde hay mayor niveles de anticuerpos (E. Doherty et al.2013)

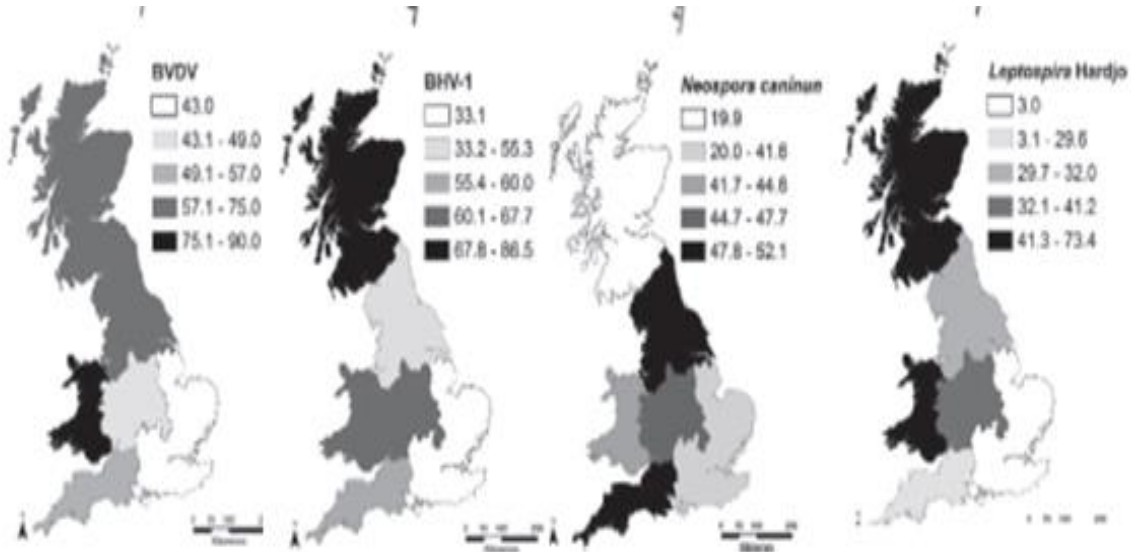
Figura 1-9. Prevalencia en muestras de leche de tanque, de marzo a noviembre, sin diferencia significativa entre muestreos. En cuanto la incidencia, se encontró un aumento en el periodo de agosto a noviembre relacionado con el final de la lactancia y al aumento de producción de anticuerpos para *N. caninum*. Tomado de E. Doherty et al.(2013).



En un estudio realizado en Gran Bretaña, de abril de 2014 a marzo de 2015, se tomaron 225 muestras de leche de tanque, divididos en 6 zonas; se tomaron 40 muestras en promedio por zona y a su vez se dividieron los hatos por tamaños: pequeño: <50 vacas; medio: 50-149 vacas y grande: ≥150 vacas. Se evaluó la presencia de anticuerpos de diferentes enfermedades y se hallaron las siguientes prevalencias: DVB 66%, BHV-1 62%, *Leptospira hardjo* 47% y *Neospora caninum* 46%. Se realizó un análisis espacial, como se observa en la Figura 1-10. Se presentó mayor riesgo de presentación de DVB y *Leptospira hardjo* en Gales con OR 14.2 (IC: 2,7-7.45, 0.001 < P <0.01) y OR 32,2 (IC: 6-173.9, P <0.001) respectivamente. Para HBV-1 el mayor OR se presentó en Escocia (6.5; IC: 1.1-38.1, 0.01 < P <0.05) y no se encontró una zona significativa de mayor riesgo para *N. caninum* (Velasova et al., 2017).

Figura 1-10 Prevalencia de diferentes enfermedades en Gran Bretaña, de abril de 2014 a marzo de 2015. De color negro se muestran las zonas de mayor prevalencia; se presentó mayor riesgo de presentación de DVB y *Leptospira hardjo* en Gales con OR 14.2 y 32,2

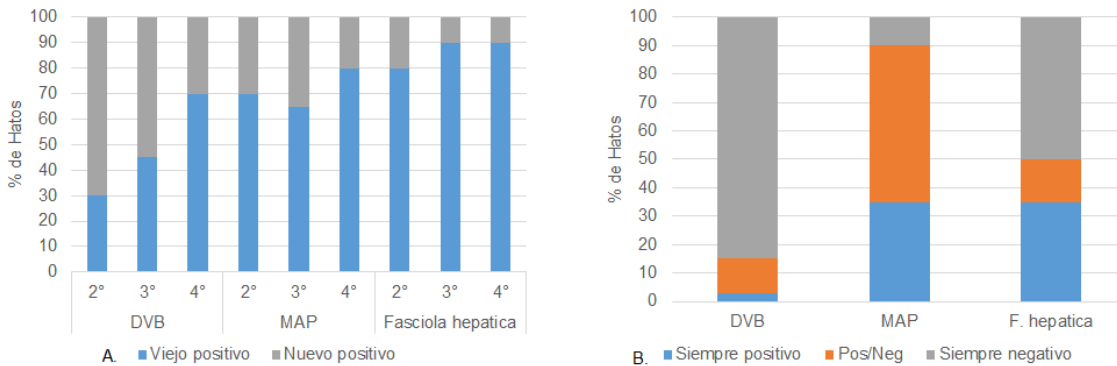
respectivamente; Escocia presentó mayor riesgo para HBV-1 (OR 6.5). No se encontró mayor riesgo a *N. caninum* en ninguna zona. Tomado de Velasova et al., (2017)



Para DVB, se realizó detección directa del antígeno por PCR en leche tomando 4 muestras cada 3 meses; se logró evidenciar la variación de los resultados entre muestreos (Figura 1-11) según la composición de vacas que aportan leche al tanque. Se puede observar que hatos que siempre fueron negativos probablemente son libres de la infección o el caso contrario de hatos que siempre marcaron positivo; los hatos que presentan resultados positivo/negativo posiblemente tienen una menor prevalencia en comparación con los hatos siempre positivos (Velasova et al., 2017).

Figura 1-11 A. Variación de las fincas respecto al muestreo trimestral anterior, se observa la constancia o el aumento fincas en azul o viejas positivas a través del tiempo, puede

deberse a la presencia de enfermedades crónicas o una baja presentación de casos nuevos entre muestreos. B Porcentaje de fincas que permanecieron siempre positivas o negativas o presentaron variación entre muestreos, observando que para DVB, la mayoría de fincas siempre se presentaron negativas, un 15% presentó variación y menos del 5% presentó positividad en los 4 muestreos, concluyendo probablemente una baja infección activa para esta enfermedad en los hatos muestreados. Tomado de Velasova et al., (2017)



Los estudios indican que el uso de muestreos repetidos de leche en tanque, permite detectar la presencia de una enfermedad en un hato y establecer la prevalencia de enfermedades en una región de manera económica. También se puede hacer seguimiento de las mismas en el tiempo como un sistema de vigilancia ya sea para programas de erradicación o de control por vacunación y también es posible asociar los resultados a factores de riesgo.

2. Capítulo 2

Dinámica de anticuerpos y factores de riesgo para DVB, IBR, Leptospira y Neospora en muestras de leche de hatos de la Provincia de Ubaté

2.1 Introducción

Diversas son las enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia. Sin embargo, la única enfermedad que actualmente presenta control y reporte oficial, es la Brucelosis bovina. La presencia de otras enfermedades como Herpes virus bovino tipo 1 o Rinotraqueitis bovina (HVB-1), Diarrea viral bovina (DVB), Neosporosis bovina (*Neospora caninum*) y Leptospirosis bovina (*Leptospira hardjo*) también representan un impacto directo sobre la productividad pecuaria del país, al afectar la eficiencia reproductiva observada en un incremento de la tasa de abortos, el intervalo entre partos, días abiertos, servicios por concepción, tasas de descarte, entre otros.

En Colombia hay reportes de prevalencias que varían del 17.7 al 90% para HVB-1, del 6.3 al 56% en DVB, del 10.2 al 76.9 de *N. caninum* y del 28 al 60.9 % para *L. hardjo*, siendo las zonas lecheras en las regiones de Antioquia y la Sabana de Cundinamarca, las de mayor prevalencia. Sin embargo, son pocos los estudios epidemiológicos que incluyen estudios longitudinales y de dinámica. Una de las más grandes dificultades es el muestreo significativo de una población ya que se ha basado en muestras serológicas individuales, que representan un gran costo tanto para la toma como para las pruebas de laboratorio, y por el número de animales necesarios para representar una población completa.

Desde mediados de 1980 los países europeos han utilizado las muestras de leche de tanque como alternativa a los muestreos serológicos, para evaluar la dinámica de anticuerpos de los hatos lecheros como una forma de llevar a cabo vigilancia epidemiológica y medición de respuesta a programas de erradicación y control de enfermedades. El principal atractivo tanto para productores como para médicos veterinarios es la gran posibilidad de determinar el estatus sanitario de un grupo de animales con una única toma. Con los resultados de leche en tanque, se busca obtener información oportuna sobre el estado de exposición a un agente, dando un panorama amplio para un programa de vigilancia en salud de hato. Además, realizando una supervisión periódica, se puede mostrar las tendencias y variaciones de los niveles de anticuerpos, siendo de esta manera una herramienta útil para establecer incidencia o prevalencia.

El estudio se llevó a cabo en la Provincia de Ubaté perteneciente al departamento de Cundinamarca y está compuesta por 10 municipios: Carmen de Carupa, Tausa, Sutatausa, Cucunubá, Fúquene, Lenguazaque, Guachetá, Susa, Simijaca y Ubaté. Se sitúa a 2556 msnm con una temperatura promedio de 13^oC. La economía se basa en la agroindustria, siendo la ganadería de leche una de las principales actividades; la Provincia aporta el 17.8% de la producción de leche de Cundinamarca con aproximadamente 747.768 L/día y 53.541 vacas en promedio, razón por la cual es una zona de gran interés para las enfermedades que afectan la producción bovina y ser una zona de referencia de uso de la muestra de leche como prueba diagnóstica, de tamiz y monitoreo para futuros estudios a nivel de hato en Colombia (Gobernación de Cundinamarca, 2016).

2.2 Hipótesis

La prevalencia, dinámica y factores de riesgo de enfermedades reproductivas DVB, IBR, Leptospirosis y Neosporosis en pequeños productores de la Provincia de Ubaté, puede determinarse a partir de muestras de leche.

2.3 Objetivo general

Estimar la prevalencia, describir la dinámica y factores de riesgo de las enfermedades DVB, IBR, *Leptospira hardio* y *Neospora caninum*, usando muestras de leche en hatos de pequeños productores de la Provincia de Ubaté.

2.4 Objetivos específicos

- Estimar el nivel de prevalencia en muestras de leche para DVB, IBR, *Leptospira hardio* y *Neospora caninum* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté
- Describir la dinámica de los niveles de anticuerpos en muestras de leche para DVB, IBR, *Leptospira hardio* y *Neospora caninum* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté.
- Categorizar los hatos de la Provincia de Ubaté dependiendo de su nivel de exposición a las diferentes enfermedades a estudiar.
- Realizar un análisis espacial de la prevalencia de estas enfermedades en los predios y establecer su distribución en los 10 municipios de la Provincia de Ubaté.
- Establecer el grado de asociación de algunos factores de riesgo con la presencia y variación de cada una de las enfermedades nombradas anteriormente.

2.5 Materiales y métodos

2.5.1 Población objetivo

Para realizar el estudio epidemiológico de la zona de Ubaté, se estimó una prevalencia del 50% (M. Gonzalez et al. 2007; Motta et al. 2012, 2013, 2014; Quevedo et al. 2011) para las cuatro enfermedades a estudiar (DVB, BHV-1, *Neospora caninum* y *L Interrogans hardjo*). Se estableció un muestreo de 384 hatos, con un nivel de confianza del 95% y una precisión absoluta del 5% utilizando la siguiente formula (Thrusfield, 1991):

$$N = \frac{1.96^2 P_{exp}(1 - P_{exp})}{d^2}$$

Donde P_{exp} = Prevalencia esperada; d = precisión absoluta; 1.96 = Multiplicador para el nivel de confianza del 95%; al remplazar los valores se obtiene:

$$N = \frac{1.96^2 \cdot 0.50 (1 - 0.50)}{0.05d^2} = 384$$

El estudio se realizó en el marco del proyecto “Innovación, ciencia y tecnología para productores de leche en la Provincia de Ubaté - Cundinamarca”; financiado por la Secretaria de Ciencia y Tecnología de la gobernación de Cundinamarca, que cobijó a pequeños productores. Se invitó a participar a las asociaciones productoras de leche de la Provincia que presentaran interés en el conocimiento del estado sanitario de las fincas lecheras. Este proyecto tuvo una cobertura final de 365 hatos, por ello, no se logró alcanzar el número estimado de 384 hatos, calculados para este trabajo; además durante la ejecución del proyecto se presentó entrada y salida de productores, presentándose una cohorte dinámica de hatos,. Los productores que ingresaron al estudio se distribuyeron según la convocatoria del proyecto. Para los municipios de Carmen de Carupa, Cucunuba y Ubaté, ingresaron 3 asociaciones por cada municipio; para Fúquene, Simijaca, Tausa y Susa, 2 asociaciones respectivamente y para los restantes municipios, Guachetá, Lenguaque y Sutatausa, una sola asociación por cada uno, para un total de 20 asociaciones. Los 365 hatos representan el 4.6% del total de productores de la Provincia de Ubaté, donde el 75% tiene menos de 10 animales, el 17% entre 11 a 25 animales y el 8% restante se divide en fincas con 50 a 1000 animales por predio. Para este estudio, se trabajó con productores con un de máximo 25 animales por hato de acuerdo a la estructura del macroproyecto (FEDEGAN-ICA 2013).

2.5.2 Toma de información y seguimiento

Dentro del proyecto se contrataron 10 veterinarios a los que se les asignaron de 35 a 40 fincas que se visitaron con una frecuencia de 45 a 60 días entre febrero de 2016 y febrero de 2018. Se realizó un programa de salud de hato dirigido por el veterinario, que incluía evaluación de glándula mamaria, toma de muestras y valoración reproductiva mediante palpación rectal, vaginoscopia y ultrasonografía. Además, se realizó seguimiento y actualización de datos como partos, celos, inseminaciones o servicios con toro, enfermedades y eventos de sanidad o bioseguridad (Anexo A).

2.5.3 Toma de muestras y prueba diagnósticas

Se realizaron 4 muestreos de leche de tanque con intervalo de 3 meses, en septiembre y diciembre de 2016, y en marzo y junio de 2017. Las muestras fueron tomadas por los 10 veterinarios del proyecto en la ruta de recolección de los camiones de la leche. Las muestras de leche se tomaron en tubos tipo Falcon de 50 ml con preservante Bronopol®, refrigeradas en neveras con temperatura entre 5 y 7 °C y transportadas al laboratorio en la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá. Posteriormente, las muestras se descremaron por centrifugación a 2000 g/10 minutos, se tomaron alícuotas en tubos Eppendorf de 1.5 ml y se congelaron a -70 °C (Pritchard, 2001).

Se usó la prueba ELISA para la detección de anticuerpos a DVB, IBR, *Neospora caninum* y *Leptospira interrogans serovar hardjo*; se empleó un lavador de microplacas Elx50 de BioTek®; la lectura espectrofotométrica se realizó en un lector de absorbancia de densidad óptica (nm) Elx800 de BioTek®. Además, se utilizó el software Gen 5 BioTek® para la detección y validación de los datos.

Se realizó cada prueba según los criterios del fabricante de cada kit y se tomaron los criterios de validación descritos a continuación:

2.5.3.1 Diarrea Viral Bovina

Se utilizó el kit IDEXX BVDV p80 Ab® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA). Esta prueba mide anticuerpos frente a la proteína p80, las muestras se corrieron según indicaciones del productor. Se colocó 100 µl de las muestras, del control negativo y positivo (incluidos en el kit) dentro de los pozos de las placas tapizadas con anticuerpos específicos WB103; se homogenizó mediante agitación y se dejó en incubación por 16 a 24 horas a una temperatura de 18°C. Se eliminó el contenido y se realizaron 5 lavados de cada placa con la solución determinada para tal fin; se adicionó 100 µl del conjugado en cada pocillo, se dejó en incubación por 30 minutos a 18 °C, protegiendo las placas de la luz. Se realizó nuevamente lavado de las placas por 3 ocasiones. Se dispensó 100 µl de sustrato, luego se incubó por 20 minutos lejos de la luz directa; finalmente se adicionó 100

µl de la solución de frenado y se procedió hacer lectura de las densidades ópticas a 450nm. Para que el ensayo fuera válido, la media del control negativo (CN \bar{x}) debía ser mayor o igual a 0,800 de Densidad Óptica (DO). Además, el control positivo (CP \bar{x}) sobre el control negativo debía ser menor a 0,2 DO. La presencia o ausencia de anticuerpos en la muestra se determinó mediante el cociente muestra/negativa (M/N) de cada muestra. Usando las siguientes formulas:

Control negativo:

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A450 + CN2 A450}{2}$$

Control positivo:

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A450 + CP2 A450}{2}$$

Muestra:

$$M/N\% = \frac{\text{Muestra A450}}{CN\bar{x}}$$

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, con una Se 99.5% y Sp 96.3%, los hatos tuvieron tres posibles resultados (Tabla 2-1) (Velasova et al., 2017).

Tabla 2-1. Interpretación de los resultados para el diagnóstico de anticuerpos de DVB, según el porcentaje de muestra positiva usando la prueba IDEXX BVDV p80 Ab[®] (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA)

M/N%	RESULTADO
≥ 80	Negativo
80 a 45	Dudoso
≤ 45	Positivo

Adicionalmente, se convocó a los predios que tuvieran animales menores de un año, encontrando en total 169 hatos, donde se tomaron muestras de suero de terneros para el diagnóstico de animales Persistentemente Infectados (PI) mediante el uso de una prueba ELISA para la detección de antígeno HerdChek BVDb Ag/suero Plus de IDEXX[®] (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) (Bedekovic, Jemersic, Lojkic, Lemo, & Keros, 2012). Esta prueba detecta la proteína E^{ms} presente en el pestivirus usando un anticuerpo monoclonal específico. Las muestras se corrieron según las indicaciones del productor. Aquellos hatos en los que se encontraron resultados de individuos positivos a la prueba se

clasificaron como “Expuestos a PI”, caso contrario “No expuestos a PI”, esta variable se usó como candidata a factor de riesgo, para el análisis estadístico.

2.5.3.2 Rinotraqueitis Infecciosa Bovina

Se utilizó el kit IDEXX IBR gB[®] (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA). La prueba detecta anticuerpos específicos de HVB-1, mediante anticuerpos monoclonales específicos anti IBR-gB. Se colocó 100 µl de las muestras, del control negativo y positivo (incluidos en el kit), dentro de los pozos y se homogenizó mediante agitación; se dejó en incubación por 12 a 18 horas a una temperatura de 2 a 8°C selladas y en cámara húmeda. Se eliminó el contenido y se realizaron 5 lavados con 300 µl cada pocillo con la solución determinada para tal fin. Se adicionó 100 µl del conjugado en cada pocillo y se dejó en incubación por una hora a 18 °C, cubriendo las placas de la luz. Se realizó nuevamente lavado de las placas por 5 ocasiones. Se dispensó 100 µl de sustrato, se incubó por 10 minutos lejos de la luz directa y se adicionó 100 µl de la solución de frenado; finalmente, se procedió hacer lectura de las densidades ópticas a 450nm y 650nm. Para que el ensayo fuera válido, la media del control negativo (CN \bar{x}) debía ser mayor o igual a 0,50 de densidad óptica (DO). Además, la media del control positivo (CP \bar{x}) debía tener un porcentaje de bloqueo superior al 80%. La presencia o ausencia de anticuerpos se determinó por el porcentaje de bloqueo de cada muestra.

$$\% \text{ Bloqueo} = \frac{\text{CN}\bar{x}(450) - \text{Muestra}(450)}{\text{CN}\bar{x}(450)} * 100$$

Con una Se 100% y una Sp 92%, los datos presentaron tres posibles resultados (Tabla 2-2) (Velasova et al., 2017).

Tabla 2-2. Interpretación de los resultados para el diagnóstico de anticuerpos contra HVB-1 según el porcentaje de bloqueo usando la prueba IDEXX IBR gB[®] (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA).

% Bloqueo	RESULTADO
< 45	Negativo
45 – 55	Dudoso
≥ 55	Positivo

2.5.3.3 Leptospirosis

Se utilizó el kit PrioCHECK® (*L. hardjo* Ab de Prionics, Suiza). La prueba detecta anticuerpos contra *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. En las placas usadas para el diagnóstico se realizó un tratamiento previo usando 100 µl de un tampón por cada pocillo e incubándolo por 1 hora a 37°C y luego se realizó lavado de las muestras por 6 ocasiones. Se adicionó en los primeros pocillos, los sueros de referencia: control negativo, positivo (incluidos en el kit), positivo débil y blanco, a una dilución 1:200; en los pozos restantes, se adicionó 100 µl de la muestras de leche, se taparon y se incubaron por 1 hora a 37°C; transcurrido el tiempo, las placas se lavaron por 6 ocasiones. Se agregó 100 µl de del conjugado y se incubó nuevamente por 1 hora a 37°C; se repitió el procedimiento de lavado y se adicionaron 100 µl del sustrato dejando en incubación por 15 minutos a 22°C. Pasado el tiempo se agregó 100 µl de la solución de frenado y luego de agitar se procedió a leer a 450nm. Para que el ensayo fuera válido, la media del control blanco debía ser menor o igual a 0,150 de densidad óptica (DO); la media del control positivo (CPx) debía ser mayor o igual a 0,100 de DO, la media del PP del control negativo (CNx) debía ser < 20; la media del PP del control positivo débil debía ser entre 20 y 60. La presencia o ausencia de anticuerpos la determinó el porcentaje de positividad (%P/P) de cada muestra a *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*.

$$\% P/P = \frac{CN (450) \text{ o } \text{ Muestra}(450) (DO \text{ COREGIDA})}{CP(450)(DO \text{ COREGIDA})} * 100$$

Donde la DO corregida es = DO muestra – DO del control negativo.

Con una Se 98.2% y Sp 99% y de acuerdo con los valores de porcentaje de positividad, los hatos se categorizaron en (Tabla 2-3) (Tabatabaeizadeh et al., 2011):

Tabla 2-3. Interpretación de los resultados para el diagnóstico anticuerpos contra *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* según el porcentaje de positividad usando la prueba PrioCHECK® (*L. hardjo* Ab de Prionics, Suiza).

P/P	RESULTADO
< 40	Negativo
40 – 60	Dudoso
> 60	Positivo

2.5.3.4 Neosporosis

Se utilizó el kit HerdChek® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA). Se colocó 100 µl del control negativo y del positivo (incluidos en el kit); de las muestras de leche, se adiciono 33.3 µl de leche más 66.6 µl de diluyente dentro de los pozos (dilución 1:2) y se homogenizó mediante agitación y se dejó en incubación por 30 minutos a una temperatura de 2 a 18° C. Se eliminó el contenido y se realizaron 4 lavados con 300 µl con la solución determinada para tal fin. Se adicionó 100 µl del conjugado en cada pocillo y se dejó en incubación por 30 minutos a 18 °C. Se realizó nuevamente lavado de las placas por 4 ocasiones. Se dispensó 100 µl de sustrato, luego se incubó por 15 minutos a 18°C, se adicionó 100 µl de la solución de frenado y se procedió hacer lectura de las densidades ópticas a 650nm . Para la validación de la placa, la media del Control Positivo (CP \bar{x}) menos la media del Control Negativo (CN \bar{x}) debía ser menor a 0,150. La media del Control Negativo (CN \bar{x}) debía ser menor o igual a 0,200. La muestra /positiva (M/P) se determinó de la siguiente forma:

$$M/P = \frac{\text{Muestra A450} - \text{CN A450}}{\text{CP A450} - \text{CN A450}}$$

Debido a que la prueba no viene estandarizada por el fabricante para muestras de leche, se usó el procedimiento recomendado por Schares et al. 2004. Se realizó una dilución 1:2 y se tomaron como positivos, todos los hatos mayores a 0.261 con una Se y Sp del 90%. De acuerdo con los valores de densidad óptica los hatos se categorizaron en (Tabla 2.4):

Tabla 2-4. Interpretación de los resultados de anticuerpos contra *N. caninum* según el resultado de muestra positiva usando la prueba HerdChek® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA)

M/P	RESULTADO
< 0.261	Negativo
≥ 0.261	Positivo

2.5.4 Descripción de la población

Se realizó estadística de frecuencias y descriptiva de la información recolectada de los seguimientos mensuales y de la evaluación reproductiva. Se escogieron las variables que se tomaron como candidatas a factores de riesgo:

2.5.4.1 Variables de caracterización

La tabla 2-5 presenta la información tomada de cada finca y su categorización teniendo en cuenta su ubicación, inventario y producción. Estas variables fueron usadas para calcular el promedio y el número total de productores en cada municipio, el inventario de animales y la producción de leche por productor y por cada municipio.

Tabla 2-5. Inventario y ubicación de los hatos de la Provincia de Ubaté seguidos durante el periodo de sep/2016 a jul/2017

Variable		Tipo de variable
Municipio	Carmen de Carupa, Tausa, Sutatausa, Cucunuba, Fúquene, Lenguazaque, Guachetá, Susa, Simijaca y Ubaté	Nominal
Inventario	#: terneras de leche y levante, Novillas de vientre, vacas en el hato, vacas en el horro, total de hembras; machos jóvenes, toros, total de machos; total de animales	Continuo
Producción de leche	Producción total y promedio	Continuo

2.5.4.2 Variables de caracterización asociadas a manejo del hato

Las tablas 2-6 a 2-8 describen la categorización de los datos obtenidos en cuanto al manejo del hato teniendo en cuenta la bioseguridad y eventos de salud.

Tabla 2-6. Información sanitaria de los hatos en la Provincia de Ubaté durante el periodo de sep/2016 a jul/2017.

Variable		Tipo de variable
Vacunación	Si - No	Dicótoma
Vacunación para cuál enfermedad reproductiva	Aftosa, Brucella, Carbón, Complejo reproductivo	Nominal
Vacunación por grupo etéreo		Nominal
Lugar de adquisición	ICA, UMATA, veterinario local, otra	Nominal
Vermifugación	Si - No	Dicótoma

Tabla 2-7. Eventos sanitarios categorizados de manera dicótoma (Si/No) ocurridos en terneras de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017

Variable
Enfermedad respiratoria
Diarrea
Onfalitis
Otras enfermedades
Mortalidad

Tabla 2-8. Eventos sanitarios en animales adultos categorizados de manera dicótoma (Si/No) recolectados de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017.

Variable
Enfermedad respiratoria
Diarrea
Mastitis
Cojeras
Otras enfermedades
Partos
Secados

2.5.4.3 Variables asociadas a eventos y parámetros reproductivos

Se incluyeron variables dicótomas que evaluaron la presencia o no de enfermedades reproductivas (Tabla 2-9) y variables de parámetros que se categorizaron de forma continua (Tabla 2-10).

Tabla 2-9. Variables de manejo reproductivo de los hatos en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017.

Variable		Tipo de variable
Inseminación artificial	Si – No	Dicótoma
Monta natural	Si – No	Dicótoma
Toro repasador	Si – No	Dicótoma
Préstamo del toro	Si – No	Dicótoma
Trastornos reproductivos	Aborto, momificación fetal, maceración fetal, mortinatos, nacimiento de animales débiles, retención de membranas fetales.	Nominal

Tabla 2-10 Parámetros reproductivos y prevalencia de enfermedades (variables continuas) en la Provincia de Ubaté de los hatos seguidos en el periodo de sep/2016 a jul/2017.

Variable
Días Abiertos
Días en leche
Servicios por concepción
% de Preñez
Prevalencia de anestro
Prevalencia de endometritis
Prevalencia de anestro
Prevalencia de descartes

2.5.5 Prevalencia de anticuerpos DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Para evaluar la prevalencia en cada muestreo, se tomó el número de hatos positivos sobre el total de hatos que se les tomó muestra, usando la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Hatos positivos a ELISA}}{\text{Total de los hatos muestreados}} \times 100$$

Para evaluar la prevalencia general, se consideró como “hatos expuestos” aquellos que en al menos un muestreo se diagnosticaron como positivos y “hatos no expuestos” aquellos que fueron negativos en los cuatro muestreos según los resultados de cada prueba. El resultado “Dudoso” que se obtuvo en las pruebas ELISA de DVB, IBR y leptospirosis, se tomó como positivo, debido a que la probable presencia de la enfermedad representa para el productor pérdidas económicas y no en caso contrario (Lewis, Gunn, McKendrick, & Murray, 2009).

$$\text{Prevalencia general} = \frac{\text{Hatos expuestos}}{\text{Total de los hatos muestreados}} \times 100$$

2.5.6 Dinámica de anticuerpos de DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

La dinámica de anticuerpos se calculó mediante la tasa de incidencia, evaluando el número de hatos “expuestos nuevos”, sobre el tiempo transcurrido en meses, usando la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de incidencia} = \frac{\text{Hatos expuestos nuevos}}{\text{Hatos expuestos mes}} \times 100 \text{ hatos}$$

2.5.7 Categorización de los hatos por niveles de exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Los hatos se clasificaron (Velasova et al., 2017):

- **Categoría 1. Siempre expuestos:** Hatos que presentaron resultados positivos a la prueba en los cuatro muestreos, expresado en porcentaje del total de hatos analizados.
- **Categoría 2. Siempre no expuestos:** Hatos que presentaron resultados negativos a la prueba en los cuatro muestreos, expresado en porcentaje del total de hatos analizados.
- **Categoría 3. Intermitentes (expuesto/no expuesto):** Hatos que presentaron resultados negativos y positivos a la prueba en los cuatro muestreos, expresados en porcentaje del total de hatos analizados.

2.5.8 Georreferenciación y análisis espacial

Cada médico veterinario tomó la lectura de la ubicación geográfica de las fincas asignadas, mediante un receptor GPS (Garmin®, Etrex). Esta lectura se utilizó posteriormente para la generación de representaciones geográficas con los resultados de la prueba ELISA, empleando para este fin, el programa QGIS Desktop® 2.18.16 (QGIS Get Interactive, 2018; Toftaker, Sanchez, Stokstad, & Nødtvedt, 2016). Además se usó las capas de municipios y límite departamental de la base cartográfica del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC, 2018).

2.5.8.1 Análisis espacial de la prevalencia a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Se realizó una regresión logística binaria enfrentando el municipio de menor prevalencia con los demás municipios para determinar la presencia de mayor riesgo por ubicación, fueron significativos aquellos con $p < 0.05$; la fortaleza de esta asociación se estimó determinando el Riesgo Relativo (RR) de cada municipio, con un intervalo de confianza del 95%, este análisis se realizó utilizando el software de SPSS® versión 23 (IBM Statistics).

Se realizó un segundo análisis de riesgo por ubicación, -mediante el programa SatScan, para encontrar posibles presencias de clúster o agregados mediante el modelo de Bernoulli, se evaluó la ubicación geográfica (latitud/longitud) frente a la probabilidad de ser una “Hato expuesto” a las diferentes enfermedades a estudio, según la clasificación de prevalencia general; fueron significativos aquellos clúster que presentaron $p < 0.05$ (Anderson, Lee, & Dean, 2014; SaTScan, 2005).

2.5.9 Factores de riesgo y asociación con la exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Se realizó un análisis univariado, para establecer el grado de asociación entre los factores de riesgo y el resultado positivo o de “Hato expuesto”. Se realizaron tablas de contingencia de 2x2, utilizando la prueba χ^2 y el criterio de Hosmer – Lemeshow de $p < 0.2$ para seleccionar las variables que entraron al modelo final de regresión logística binaria.

En el modelo de regresión logística binaria, se seleccionaron como factores de riesgo las variables significativas con $p < 0.05$ y un intervalo de confianza del 95%. El significado de la asociación se estimó determinando el Riesgo Relativo (RR) de cada factor con los intervalos de confianza del 95%. Los cálculos se realizaron usando el software de SPSS® versión 23 (IBM Statistics).

2.6 Resultados

2.6.1 Descripción de la población

El número propuesto inicial de fincas intervenidas en este estudio fue de 384 productores, sin embargo, este estudio se hizo en marco del proyecto “Innovación, ciencia y tecnología para productores de leche en la Provincia de Ubaté - Cundinamarca”, que cobijó finalmente 365 productores, tomando este número como la población objetivo. Se logró tener la información completa de 334 fincas de las 365 fincas evaluadas (91.5%); la producción promedio por hato fue de $65,8 \pm 89.1$ l/día (11 l/día/vaca) y un total aproximado de 21.970 l/día, representando el 3% de producción de la región. El número promedio de vacas en

ordeño fue de 6 ± 5.8 con un promedio de 11.9 ± 11.7 animales en total por productor. Los municipios de mayor producción fueron Ubaté y Fúquene (Tabla 2-11).

Tabla 2-11 Inventario animal de los 334 productores de los 10 municipios de la Provincia de Ubaté – Cundinamarca, entre el periodo de sep/2016 a jul/2017

Municipio	# Productores	L/día	V total	Hato	Horro	Novillas	Temeras levante	Temeras leche	Machos juvenes	Toros	Total
Carmen de Carupa	61	2969	359	279	80	77	67	59	40	19	621
Cucunubá	37	2471	340	265	75	66	67	60	10	5	548
Fuquene	46	3304	307	247	60	63	53	18	11	3	455
Guachetá	13	1842	171	143	28	39	35	14	3	2	264
Lenguazaque	12	883	129	107	22	20	31	7	4	7	198
Simijaca	38	2307	244	208	36	56	59	45	4	1	409
Susa	51	2250	274	223	51	30	46	30	34	15	429
Sutatausa	18	1536	136	114	22	39	28	21	4	10	238
Tausa	14	405	67	48	19	8	14	11	14	1	115
Ubaté	44	4003	459	363	96	62	70	89	16	7	703
Total	334	21970	2486	1997	489	460	470	354	140	70	3980
Promedio Productor		65.8 ± 89.1	7.4 ± 7.3	6 ± 5.8	1.4 ± 1.9	1.4 ± 2.2	1.4 ± 1.9	1.1 ± 1.6	0.4 ± 0.7	0.2 ± 0.5	11.9 ± 11.7

El 10 % (n: 33) de los productores cuentan con ordeño mecánico y el restante ordeñan a mano (n: 331). La mayoría de los productores tenían 5 vacas o menos en ordeño (64.1%) y la raza predominante fue la Holstein (61.4%; Tabla 2-12).

Tabla 2-12 Distribución de productores por el número de animales en ordeño y raza predominante en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017

# de vacas en ordeño	# Productores	%	Raza	# Productores	%
1 a 5	214	64.1	Holstein	205	61.4
6 a 11	87	26.0	Normando	48	14.4
12 a 15	18	5.4	Jersey	11	3.3
16 a 20	7	2.1	Cruces	65	19.5
> 20	8	2.4	Otras	5	1.5
Total	334	100.0	Total	334	100

Los productores del estudio, tienen un área de pastoreo de 5 hectáreas y toman lotes en arriendo. El total de los hatos vacunan con el ciclo obligatorio del país contra fiebre aftosa y Brucella. Sin embargo, solo el 13% son certificados libres de brucelosis y tuberculosis. Únicamente el 0.8% de las producciones han usado alguna vez vacunación contra otros agentes que afectan la reproducción como DVB, HVB-1, leptospirosis.

Tabla 2-13 Variables de bioseguridad en la Provincia de Ubaté de los 334 hatos en el periodo de sep/2016 a jul/2017

Municipio	# Productores	Compra Animales		Certificación		Cuarentena		Venta de Animales		Movilización de Animales	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Ubaté	44	21	47.7	4	9.1	1	2.3	30	68.2	24	54.5
Carmen de Carupa	61	30	49.2	18	29.5	5	8.2	20	32.8	32	52.5
Cucunuba	37	23	62.2	9	24.3	5	13.5	23	62.2	24	64.9
Fúquene	46	22	47.8	2	4.3	3	6.5	41	89.1	32	69.6
Guacheta	13	5	38.5	2	15.4	0	0.0	13	100.0	8	61.5
Lenguazaque	12	7	58.3	6	50.0	7	58.3	10	83.3	11	91.7
Simijaca	38	15	39.5	4	10.5	0	0.0	14	36.8	20	52.6
Susa	51	24	47.1	0	0.0	3	5.9	37	72.5	32	62.7
Sutatausa	18	8	44.4	0	0.0	0	0.0	13	72.2	13	72.2
Tausa	14	4	28.6	0	0.0	0	0.0	10	71.4	2	14.3
Total	334	159	47.6	45	13.5	24	7.2	211	63.2	198	59.3

El 47.6% de los productores compran animales, en su mayoría vacas en producción o novillas de primer parto que se adquieren generalmente de fincas de mayor tamaño o en las plazas de mercado; el 13.5% compra animales de lugares certificados libres de brucelosis y tuberculosis y el 7% de los compradores hacen cuarentena. El 63.2% de los productores venden animales; la categoría de mayor venta son terneros, animales de descarte y toros de engorde o para reproducción en especial en época de verano. Se presenta un alto recambio de toros para monta natural, puesto que son los primeros que se descartan en época de necesidad y se vuelven a comprar en épocas de mayor disponibilidad de pasto (Tabla 2 -13).

La inseminación artificial la realizan técnicos inseminadores y los propietarios en general no conocen la procedencia del semen; únicamente solicitan que sea de razas lecheras o razas de carne en caso de llevar 3 inseminaciones sin lograr preñar. En sistemas mixtos (toro e IA), el toro se usa en las vacas que no han sido preñadas por inseminación artificial y suele ser prestado entre vecinos (Tabla 2-14).

Tabla 2-14 Método de servicio en reproducción en los productores en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017

Municipio	# Productores	Inseminación		Monta Natural		Sistema Mixto	
		n	%	n	%	n	%
Ubaté	44	16	36.4	10	22.7	18	40.9
Carmen de Carupa	61	22	36.1	15	24.6	24	39.3
Cucunuba	37	9	24.3	11	29.7	17	45.9
Fúquene	46	27	58.7	4	8.7	15	32.6
Guacheta	13	8	61.5	0	0.0	5	38.5
Lenguazaque	12	4	33.3	6	50.0	2	16.7
Simijaca	38	17	44.7	2	5.3	19	50.0
Susa	51	16	31.4	16	31.4	19	37.3
Sutatausa	18	2	11.1	11	61.1	5	27.8
Tausa	14	6	42.9	1	7.1	7	50.0
Total	334	127	38.0	76	22.8	131	39.2

Durante el proyecto se encontró un promedio de 43.9% (± 18.9) de vacas gestantes por hatos, necesitando 1.4 (± 0.5) servicios para lograr una gestación con un intervalo aproximado de 175 (± 76.5) días entre el parto y la concepción. El promedio de días en leche fue de 202 (± 85.2). (Tabla 2-15). El municipio que presentó menor DA y porcentaje de preñez fue Lenguazaque, mientras que Simijaca presentó los resultados más pobres.

Tabla 2-15 Parámetros reproductivos en la Provincia de Ubaté de los hatos seguidos durante el periodo de sep/2016 a jul/2017. SxCx: Servicios por concepción. DA: Días abiertos. DL: Días en leche.

Municipio	# Productores	% de Preñez	SxCx	DA	DL
Ubaté	44	47.2	1.5	156	172.7
Carmen de Carupa	61	45.7	1.38	169.3	197.3
Cucunuba	37	44.7	1.4	187	208.8
Fúquene	46	43.2	1.4	203	232.6
Guacheta	13	45.2	1.5	196	207
Lenguzaque	12	55.8	1.1	151	183.9
Simijaca	38	39.6	1.3	211.7	243.3
Susa	51	41.9	1.27	137	173
Sutatausa	18	40.8	1.47	173	214
Tausa	14	38.8	1.5	170	190
Promedio	334	43.9 ±18.9	1.4 ±0.5	175 ±76.5	202 ±85.2

Se presentó una baja prevalencia de abortos (2.5 % ±0.67). Los animales no productivos o enfermos fueron la principal causa de descarte (1.9%). Las enfermedades reproductivas tuvieron una baja prevalencia siendo el anestro la de mayor presentación (3.1% ±1.72), seguida de 2.2% ±1.38 de endometritis en los periodos de verano presentes de Noviembre – Enero y Junio – Septiembre (CAR, 2015) (Tabla 2-16).

Tabla 2-16 Prevalencia de las principales enfermedades reproductivas en la Provincia de Ubaté en el periodo de sep/2016 a jul/2017- , 3.1% \pm 1.72 de prevalencia de anestro y 1.9% \pm 1.15 prevalencia de descarte

Municipio	# Productores	Prevalencia			
		Aborto	Endometritis	Anestro	Descarte
Ubaté	44	2.4	2.7	6.5	1.3
Carmen de Carupa	61	3.3	0.5	3.9	0.2
Cucunuba	37	2.8	4.2	3.2	1.7
Fúquene	46	3.0	0.9	2.6	1.9
Guachetá	13	2.4	2.1	1.5	1.9
Lenguazaque	12	3.5	3.0	2.3	2.1
Simijaca	38	2.2	1.2	1.3	4.3
Susa	51	1.3	2.7	1.9	1.3
Sutatausa	18	1.7	0.7	2.4	0.9
Tausa	14	2.2	4.3	5.5	3.2
Promedio	334	2.5 \pm 0.67	2.2 \pm 1.38	3.1 \pm 1.72	1.9 \pm 1.15

2.6.2 Prevalencia de anticuerpos a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Durante el muestreo se presentaron salida o entrada de fincas; debido a esto, durante la diferente toma de leche, se encuentra un número diferente de fincas, teniendo una cohorte dinámica a través del tiempo, teniendo un número final de 365 hatos muestreados. Se tomaron 311 muestras de leche en el muestreo # 1 (septiembre, 2016), 325 en el muestreo # 2 (diciembre, 2016), 321 en el muestreo # 3 (marzo, 2017) y 312 en el muestreo # 4 (junio, 2017).

Se detectó una prevalencia general a HVB-1 del 27.9% \pm 10.2, DVB del 79.9% \pm 13.5, a *Neospora caninum* del 90.6% \pm 7.6 y a *Leptospira hardjo* del 44% \pm 13.2 de la cohorte dinámica de 365 hatos en el total de los cuatro muestreos de septiembre de 2016 a junio de 2017. Además, la prevalencia por municipio varió del 8.06% al 47% para HVB-1, del

53.8% al 90.6% para DVB, del 75 al 100% para *N. caninum* y del 21 al 62% para *L. hardjo*. Guachetá presentó la mayor prevalencia de HVB-1 (53.4%); en el caso de DVB, Simijaca presentó el mayor dato con 90.6%; para *N. caninum* en Lenguazaque el 100% de los hatos presentaron anticuerpos a la enfermedad. Mientras que Fúquene presentó la prevalencia más alta a leptospirosis (64%), como se observa en la tabla 2-17.

Tabla 2-17 Prevalencia general de exposición por municipios en la Provincia de Ubaté de los 365 hatos en el periodo de sep/2016 a jul/2017

Municipio	HVB-1		DVB		<i>N. caninum</i>		<i>L. hardjo</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Carmen de Carupa	16/61	26.2	54/61	88.5	55/61	90.1	26/61	43
Cucunuba	14/38	36.8	30/38	78.9	37/38	97.3	17/38	45
Fúquene	12/750	24	41/50	82	49/50	98	32/50	64
Guachetá	7/13	53.8	7/13	53.8	11/13	84.6	8/13	62
Lenguazaque	6/13	46.1	11/13	84.6	13/13	100	8/13	62
Simijaca	10/43	23.2	39/43	90.6	36/43	83.7	17/43	40
Susa	5/62	8.06	44/62	70.9	53/62	85.4	13/62	21
Sutatausa	5/20	25	17/20	85	15/20	75	7/20	35
Tausa	3/14	21.4	11/14	78.5	13/14	92.8	5/14	36
Ubaté	24/51	47	37/51	72.5	49/51	96	26/51	51
Total	102/365	27.9	291/365	79.7	331/365	90.6	159/365	43.5

La prevalencia entre ciclos, se presentó estable del 20.3%, 20.6%, 19% y 19.2%, para HVB-1 en cada uno de los muestreos; para DVB la prevalencia se encontró 60.5%, subió al 68%, bajó al 59.8% y terminó en el 69.6%.; para *N. caninum*, la prevalencia fue parecida en los 3 primeros muestreos, 74.9%, 74.46% y 70.30% y presentó un ascenso en el último a una prevalencia del 81.7%. Finalmente, para *L. hardjo*, se obtuvo una prevalencia del 42.4% en el primer muestreo, bajó al 22.80% en el segundo muestreo, seguido de 21.9% y terminando en 23.4% (tabla 2-18)

Tabla 2-18 Número de muestras tomadas y prevalencias por muestreo para cada por enfermedad

Enfermedad	sep-16		dic-16		mar-17		jun-17	
	n (311)	%	n (325)	%	n (321)	%	n (312)	%
HVB-1	63	20.3	67	20.6	61	19	60	19.2
DVB	188	60.5	221	68	192	59.8	217	69.6
<i>N. caninum</i>	233	74.92	242	74.46	237	74.30	255	81.7
<i>L. hardjo</i>	132	42.4	74	22.80	70	21.9	73	23.4

2.6.2.1 Prevalencia de hatos con animales persistentemente infectados (PI)

Se encontró una prevalencia por finca de 2.4%, lo que equivale a 4 hatos con la presencia de animales menores de un año con antígenos a DVB, de 460 animales de 169 hatos muestreados para la prueba de antígeno, en toda la Provincia. En el municipio de Ubaté, una de las fincas positivas presentó 2 animales con antígenos a DVB, para un total de 5 animales positivos en 4 hatos (Tabla 2-19)

Tabla 2-19 Prevalencia por hato con la presencia de animales PI en la Provincia de Ubaté de los 169 hatos

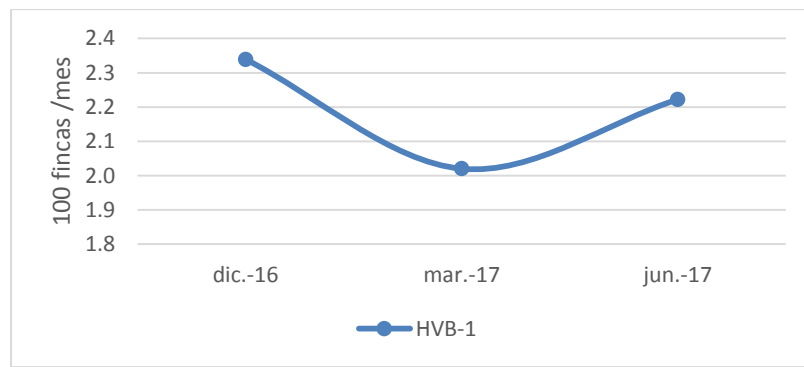
Municipio	n	%
Carmen de Carupa	1/28	3.6
Cucunuba	0/14	0.0
Fuquene	1/26	3.8
Guacheta	0/11	0.0
Lenguazaque	0/11	0.0
Simijaca	0/15	0.0
Susa	0/28	0.0
Sutatausa	0/6	0.0
Tausa	0/8	0.0
Ubate	2/24*	8.3
Total	4/169	2.4

*Uno de los hatos presenta dos terneros PI

2.6.3 Dinámica de anticuerpos de DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

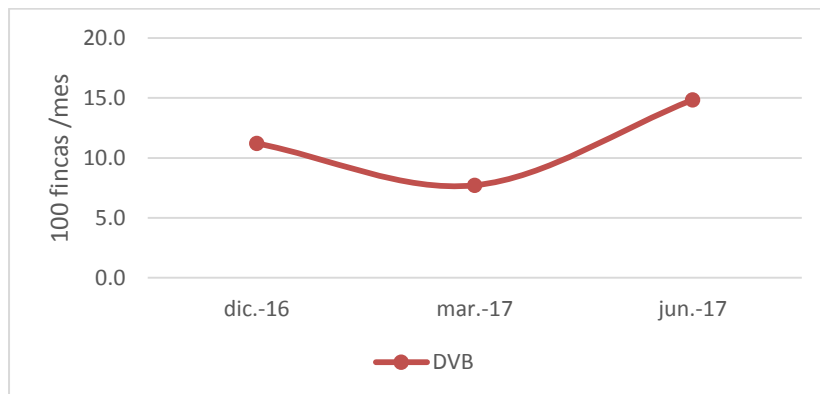
Se encontró una tasa de incidencia para HVB-1 de 2.3 casos por cada 100 fincas/ mes en el primer trimestre (septiembre a diciembre 2016); 2 casos por cada 100 fincas/ mes en el segundo trimestre (diciembre 2016 a marzo 2017) y, 2.2 casos por cada 100 fincas/ mes en el último trimestre (marzo 2017 a junio 2017); no se observó una variación marcada de la presentación de casos nuevos para esta enfermedad a través del tiempo (Figura 2-1).

Figura 2-1 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para HVB-1



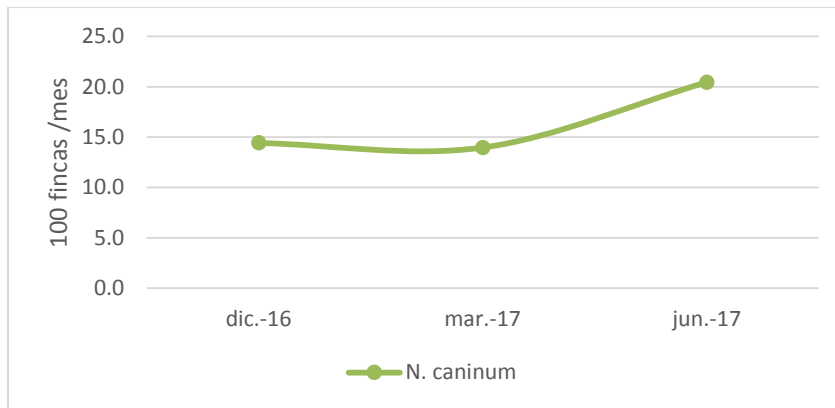
Para DVB se encontró una incidencia de 11.2, 7.7 y 14.8 casos nuevos por cada 100 fincas/ mes, presentando una variación de 3.5 casos por cada 100 fincas/ mes menos del segundo al tercer trimestre y 7.1 casos por cada 100 fincas/ mes, más del tercer al cuarto trimestre (Figura 2-2).

Figura 2-2 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para DVB



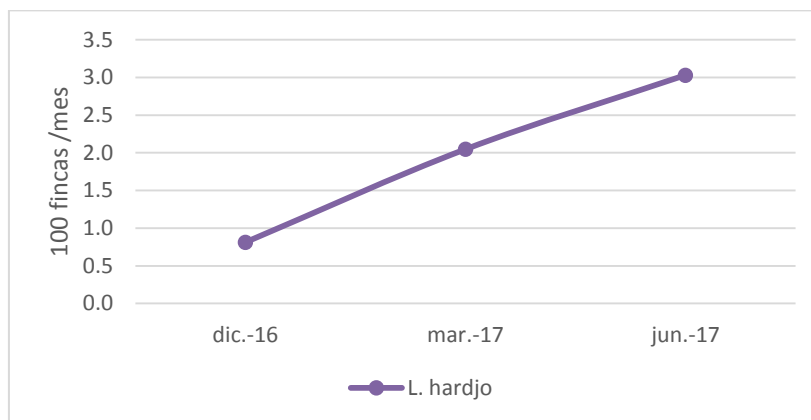
Para *N. caninum*., se presentaron 14.4, 14.0 y 20.4 casos por cada 100 fincas/ mes; los dos primeros muestreos dieron resultados similares mientras que del tercer al cuarto trimestre se presentó un aumento de 6.4 casos por cada 100 fincas/ mes (Figura 2-3).

Figura 2-3 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para *N. caninum*.



Para *L. hardjo* la TI fue de 0.8, 2 y 3 casos nuevos por cada 100 fincas/ mes, mostrando un nuevo caso por cada 100 fincas/ mes entre trimestres (Figura 2-4).

Figura 2-4 Tasa de incidencia en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté para *L. hardjo*



2.6.3.1 Variación de la tasa de incidencia por municipio

Se observa una variación de 0 casos hasta 6,7 casos por cada 100 fincas al mes para HVB-1, siendo Lenguazaque el municipio con mayor número de casos reportados (6.7 y 4.8 casos por cada 100 fincas/ mes) en los periodos de septiembre a diciembre de 2016 y de diciembre de 2016 a marzo de 2017 respectivamente. Sin embargo, Ubaté, a pesar de que no es el municipio que presenta mayor número, si evidencia casos nuevos en todos los semestres, mostrando 3.7, 2.1 y finalmente 6.1 por cada 100 fincas/ mes, a diferencia del resto de municipios en los que en al menos un periodo no hay aparición de casos nuevos (tabla 2-20).

Tabla 2-20 Tasa de incidencia de HVB-1 en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté

Municipio	Dic-16		Mar-17		Jun-17	
	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes
Carmen de Carupa	5/114	4.4	2/114.	1.8	1/126	0.8
Cucunuba	0/63	0.0	0/60	0.0	3/72	4.2
Fúquene	3/105	2.9	4/114	3.5	2/108	1.9
Guacheta	1/18	5.6	0/18	0.0	1/18	5.6
Lenguazaque	2/30	6.7	1/21	4.8	0/21	0.0
Simijaca	2/96	2.1	3/99	3.0	3/96	3.1
Susa	0/129	0.0	3/150	2.0	0/153	0.0
Sutatausa	1/42	2.4	0/33	0.0	0/24.	0.0
Tausa	0/33	0.0	0/36	0.0	2/36	5.6
Ubaté	2/54	3.7	1/48	2.1	4/66	6.1
Total	16/684	2.3	14/693	2.0	16/720	2.2

El número de casos nuevos para DVB, fue mayor en comparación con HVB-1, aunque en algunos periodos algunos municipios no presentaron casos nuevos como Tausa,

Sutatausa y Lenguazaque. En caso contrario, Carmen de Carupa presentó 17.6, 10.3 y 18.8 casos nuevos por cada 100 fincas en cada uno de los periodos, mostrando el mayor número de casos nuevos. Llama la atención el municipio de Lenguazaque que en el primer periodo muestra 16.7 casos nuevos y al segundo periodo no presenta casos nuevos y en el periodo final presenta casi 24 casos nuevos (tabla 2-21).

Tabla 2-21 Tasa de incidencia de DVB en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté

Municipio	Dic-16		Mar-17		Jun-17	
	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes
Carmen de Carupa	9/51	17.6	4/39	10.3	9/48	18.8
Cucunuba	5/39	12.8	1/24	4.2	8/48	16.7
Fúquene	5/60	8.3	3/51	5.9	10/51	19.6
Guacheta	2/24	8.3	2/18	11.1	1/21	4.8
Lenguazaque	3/18	16.7	0/12	0.0	5/21	23.8
Simijaca	3/24	12.5	3/24	12.5	4/27	14.8
Susa	6/60	10.0	5/69	7.2	14/99	14.1
Sutatausa	1/9	11.1	2/12	16.7	0/0	0.0
Tausa	0/15	0.0	1/15	6.7	1/15	6.7
Ubaté	3/30	10.0	1/21	4.8	1/27	3.7
Total	37/330	11.2	22/285	7.7	53/357	14.8

Se presentó un gran número de aparición de casos nuevos en la Provincia de Ubaté a *Neospora caninum*, variando desde 0 casos en algunos periodos (municipios de Sutatausa, Cucunuba y Lenguazaque) hasta 33 casos nuevos en Cucunuba, Lenguazaque y Fúquene. Sutatausa fue el municipio de menor presentación de casos, mostrando 0 casos para los dos primeros periodos y 26.7 para el final y Fúquene, el de mayor presentación, con 33, 25 y 27.8 casos nuevos por cada 100 fincas al mes (tabla 2-22).

Tabla 2-22 Tasa de incidencia de *N caninum* en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté

Municipio	Dic-16		Mar-17		Jun-17	
	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes
Carmen de Carupa	6/42	14.3	9/51	17.6	8/45	17.8
Cucunuba	3/9	33.3	1/3	33.3	0/3	0.0
Fúquene	8/24	33.3	3/12	25.0	5/18	27.8
Guacheta	2/12	16.7	2/9	22.2	2/9	22.2
Lenguazaque	2/6	33.3	0/0	0.0	1/3	33.3
Simijaca	2/33	6.1	4/45	8.9	13/54	24.1
Susa	6/48	12.5	4/51	7.8	10/57	17.5
Sutatausa	0/21	0.0	0/12	0.0	4/15	26.7
Tausa	1/12	8.3	3/18	16.7	1/12	8.3
Ubaté	2/15	13.3	5/21	23.8	2/9	22.2
Total	32/222	14.4	31/222	14.0	46/225	20.4

En *Leptospira hardjo* se presentó menor variación. La mayoría de los municipios no presentó ningún caso nuevo entre muestreos; Ubaté y Carmen de Carupa fueron los únicos municipios que presentaron casos nuevos en todos los muestreos variando de 1 a 7.3 casos por cada 100 fincas al mes (tabla 2-23).

Tabla 2-23. Tasa de incidencia de *L. hardjo* en muestras de leche en hatos de la Provincia de Ubaté

Municipio	Dic-16		Mar-17		Jun-17	
	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes	n (c/meses)	100 fincas /mes
Carmen de Carupa	2/87.	2.3	1/99.	1.0	9/123.	7.3
Cucunuba	0/54.	0.0	0/66.	0.0	1/72.	1.4
Fúquene	0/45.	0.0	4/90.	4.4	4/90.	4.4
Guacheta	0/15	0.0	1/24.	4.2	0/21	0.0
Lenguazaque	0/15	0.0	2/24.	8.3	0/18	0.0
Simijaca	0/72	0.0	3/105.	2.9	2/102.	2.0
Susa	0/102	0.0	2/150.	1.3	2/150.	1.3
Sutatausa	1/36.	2.8	0/30	0.0	0/21	0.0
Tausa	0/21	0.0	0/39	0.0	0/36	0.0
Ubaté	1/45.	2.2	1/57.	1.8	3/60.	5.0
Total	4/492	0.8	14/684	2.0	21/693	3.0

2.6.4 Categorización de los hatos por niveles de exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Se dividieron los hatos en 3 categorías: Siempre expuestos, siempre no expuestos e intermitentes. El 72.1% (263) de los hatos se categorizaron como no expuestos a HVB-1. Esta fue la enfermedad con menor número de hatos intermitentes, el 17.3% (63 hatos) y solo el 10.7% (39 hatos) se presentaron siempre positivos en los 4 muestreos.

Tabla 2-24 Categorización de los hatos según su resultado de exposición en los cuatro muestreos en la Provincia de Ubaté - Cundinamarca

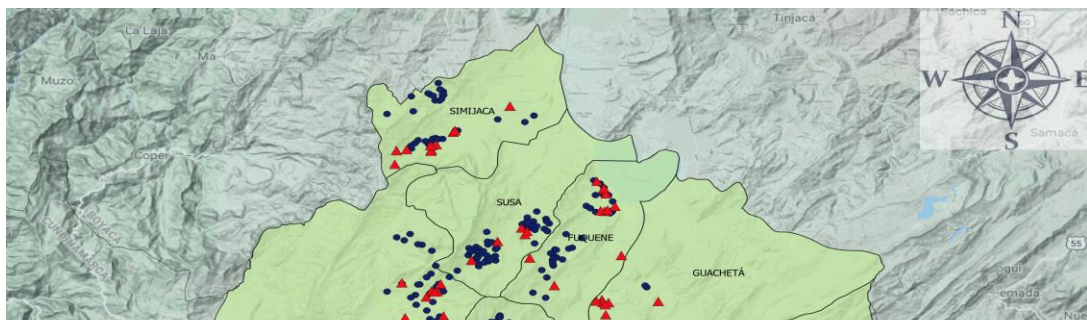
Enfermedad Categoría	n	HVB-1		DVB		<i>N.caninum</i>		<i>L.hardjo</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Siempre No expuesto	263	72.1	74	20.3	34	9.3	206	56.4	
Intermitente	63	17.3	133	36.4	235	64.4	101	27.7	
Siempre Expuesto	39	10.7	158	43.3	96	26.3	58	15.9	
Total	365	100.0	365	100.0	365	100.0	365	100.0	

En DVB, el 20.3% se presentaron como no expuestos en los 4 muestreos, el 36.4% de los hatos fueron intermitentes (133 hatos) y siempre expuestos el 43.3% (158 hatos); para *N. caninum*, el 9.3% de los hatos se presentaron como siempre no expuestos, el 64.4% intermitentes y 26.3 siempre expuestos. Leptospirosis, presentó 56.4% (204 hatos) de los hatos como no expuesto en todos los periodos, 27.7% (101 hatos) que mostraron variación o intermitencia y 15.9 siempre expuestos (Tabla 2-24).

2.6.5 Análisis espacial de la prevalencia y distribución geográfica de la exposición

Se diagramaron los resultados positivos y negativos en el mapa de la Provincia de Ubaté. En círculos azules se observan los hatos no expuestos y en triángulos rojos los hatos expuestos para cada enfermedad. En la gráfica 2-5, para HBV-1, se observa la presencia de 102 hatos expuestos y 263 no expuestos; en la gráfica 2-6 para DVB, se encuentra 291 hatos expuestos y 74 no expuestos, en la gráfica 2-7 para *N. caninum*, hay 331 hatos expuestos y 34 no expuestos. Para *L. hardjo* de la gráfica 2-8, se observa 159 hatos expuestos y 206 no expuestos.

Figura 2-5 Mapa de exposición a HVB-1 en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté entre Septiembre 2016 - Junio 2017



En la tabla 2-25, se comparó el municipio de Susa, que presentó la prevalencia menor a HVB-1 (8.06%), con el resto de los municipios. Sutatausa, con una prevalencia de 25%, fue el municipio de mayor riesgo (RR: 5.14, p: 0.02) seguido de Guachetá y Lenguazaque (RR: 3.45, p: 0.005 y RR: 3.3, p: 0.01) con prevalencias del 53.8% y 46.1% respectivamente.

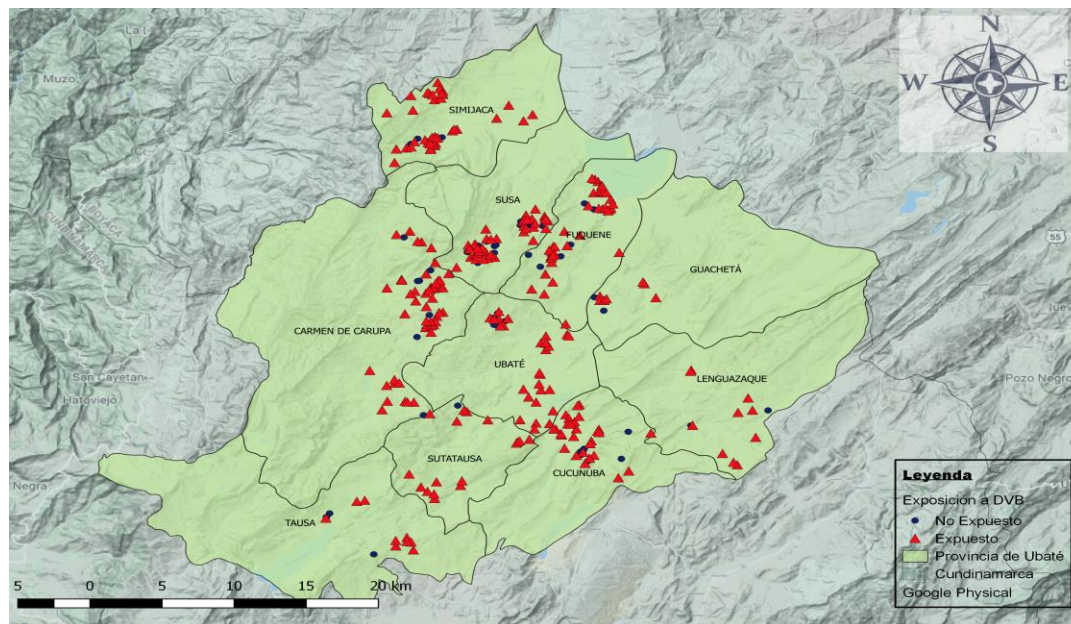
Para DVB, el municipio de menor prevalencia fue Guachetá, (53.8%); los municipios de Carmen de Carupa y Sutatausa con prevalencias entre el 88 y 85%, presentaron 3.29 (p=0.01) y 3.45 (p=0.03) mayor probabilidad de presentar exposición al virus respectivamente en comparación con Guachetá (Tabla 2-26)

Tabla 2-25 Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Susa con respecto a los demás municipios para HVB-1

Municipio	n	RR	IC 95%	p	Prevalencia
-----------	---	----	--------	---	-------------

			Inferior	Superior		n	%
Susa	51				0.02	5/62	8.06
Sutatausa	18	5.14	2.81	4.22	0.02	5/20	25
Guacheta	13	3.45	1.64	4.55	0.005	7/13	53.8
Lenguazaque	12	3.3	1.48	4.5	0.01	6/13	46.1
Ubaté	44	3.07	1.69	4.16	0.001	24/51	47
Cucunuba	37	3.02	1.6	4.16	0.003	14/38	36.8
Fúquene	46	2.28	1.03	3.65	0.04	12/50	24
Carmen de Carupa	61	2.19	1	3.54	0.05	16/61	26.2
Simijaca	38	1.83	0.72	3.32	0.18	10/43	23.2
Taúsa	14	1.58	0.41	3.53	0.45	3/14	21.4

Figura 2-6 Mapa de exposición a DVB en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2018.



Municipio	n	RR	IC 95%		p	Prevalencia	
			Inferior	Superior		n	%

Guacheta	13				0.10	7/13	53.8
Sutatausa	18	3.45	1.15	4.72	0.03	17/20	85
Carmen de Carupa	61	3.29	1.42	4.52	0.01	54/61	88.5
Simijaca	38	5.00	0.00	0.00	1.00	39/43	90.6
Tausa	14	3.13	0.90	4.64	0.07	11/14	78.5
Susa	51	2.55	0.93	4.14	0.07	44/62	70.9
Fúquene	46	2.54	0.89	4.15	0.07	41/50	82
Cucunuba	37	1.56	0.44	3.35	0.45	30/38	78.9
Ubaté	44	1.47	0.43	3.24	0.50	37/51	72.5
Lenguazaque	12	1.32	0.22	3.67	0.73	11/13	84.6

Tabla 2-26 Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Guachetá con respecto a los demás municipios para DVB

Neospora caninum presenta una alta prevalencia en todos los municipios. Sutatausa con la menor prevalencia (75%) se comparó con los otros municipios. Carmen de Carupa con un riesgo de 3.09 ($p=0.05$) y Ubaté con 3.10 ($p=0.05$) fueron los municipios que presentaron mayor riesgo en la comparación (Tabla 2-27).

Figura 2-7 Mapa de exposición a *N. caninum* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2018

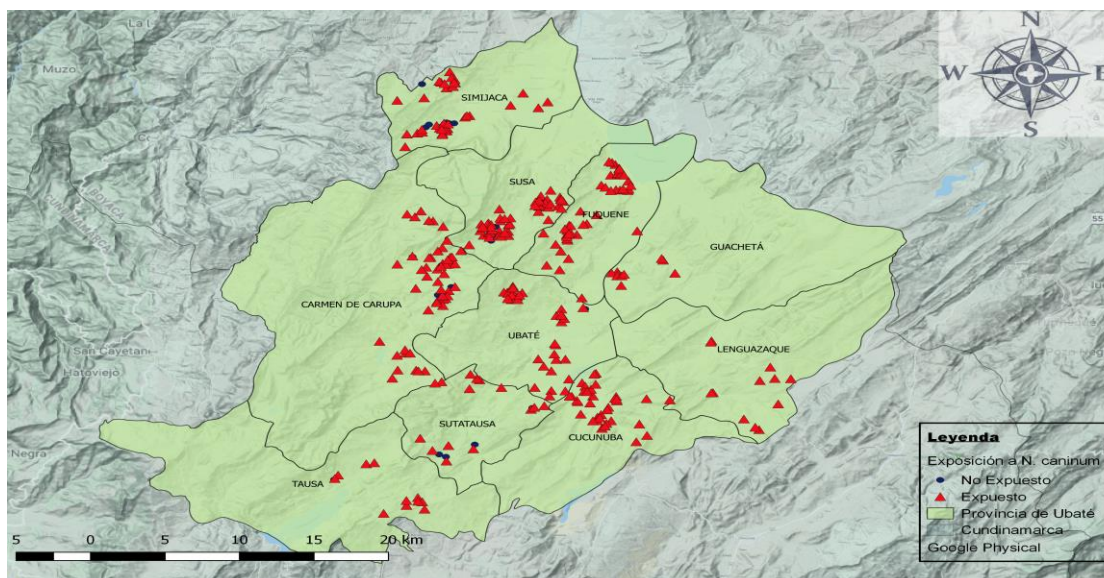


Tabla 2-27. Resultados de riesgo relativo (RR) entre el municipio de Sutatausa con respecto a los demás municipios para *N. caninum*.

Municipio	n	RR	IC 95%		p	Prevalencia	
			Inferior	Superior		N	%
Sutatausa	18				0.62	15/20	75
Carmen de Carupa	61	3.09	0.98	4.57	0.05	55/61	90.1
Ubaté	44	3.10	1.01	4.57	0.05	49/51	96
Fúquene	46	5.00	0.00	-	1.00	49/50	98
Lenguazaque	12	5.00	0.00	-	1.00	13/13	100
Cucunuba	37	3.32	0.80	4.77	0.08	37/38	97.3
Simijaca	38	2.29	0.66	4.12	0.17	36/43	83.7
Tausa	14	2.13	0.31	4.46	0.38	13/14	92.8
Susa	51	2.00	0.66	3.73	0.20	53/62	85.4
Guacheta	13	1.28	0.22	3.60	0.76	11/13	84

Figura 2-8. Mapa de exposición a *L. hardjo* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017

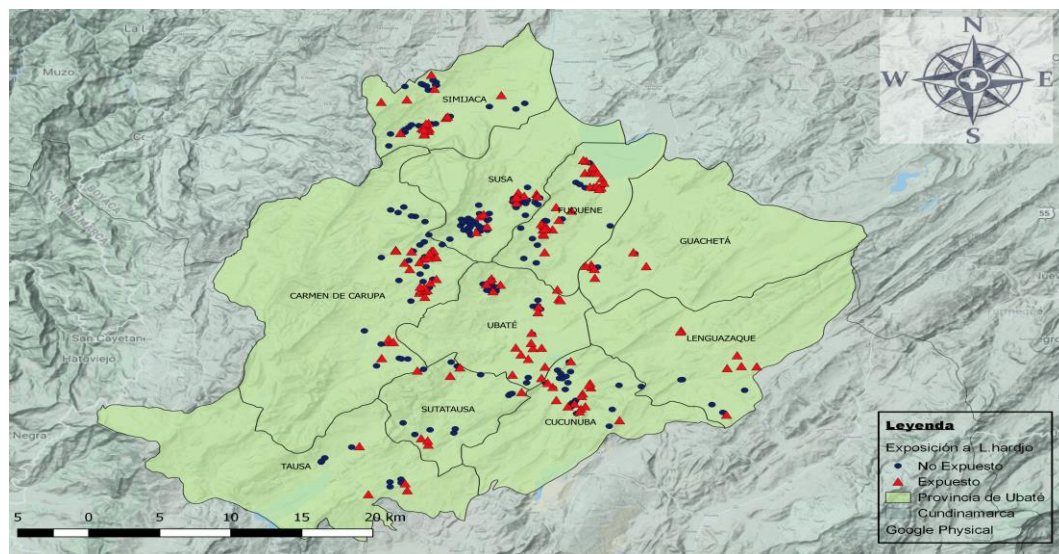


Tabla 2-28. Resultados de Riesgo Relativo (RR) entre el municipio de Sutatausa con respecto a los demás municipios para *L. hardjo*.

Municipio	n	RR	IC 95%		p	Prevalencia	
			Inferior	Superior		n	%
Sutatausa	18				0.33	7/20	35
Carmen de Carupa	61	3.49	1.34	4.68	0.02	26/61	42.6
Ubaté	44	3.11	1.03	4.57	0.05	26/51	50.9
Fúquene	46	5.00	0.00	-	1.00	32/50	64
Lenguazaque	12	5.00	0.00	-	1.00	8/13	61.5
Cucunuba	37	3.52	0.94	4.80	0.06	17/38	44.7
Simijaca	38	2.65	0.87	4.29	0.08	17/43	39.5
Tausa	14	2.14	0.32	4.46	0.37	5/14	35.7
Susa	51	1.97	0.66	3.68	0.20	13/62	20.9
Guacheta	13	1.06	0.18	3.32	0.94	8/13	61.5

Carmen de Carupa (p: 0.02) presenta 3.49 más riesgo de exposición a *L. hardjo* que el municipio de Sutatausa y presenta una prevalencia de 42.6%. Ubaté presenta 3.11 más riesgo, sin embargo se presenta en el límite de significancia con un p de 0.05 (Tabla 2-28).

2.6.6 Análisis espacial de clúster

Se encontraron 14 clústers en el análisis estadístico de Bernoulli, para evaluar la presencia de agrupaciones de casos, que pueden deberse a la ubicación espacial. Para la exposición a HVB-1 (Figura 2-9), se encontró un clúster de 19.9 km de radio ($p < 0.00$), situado sobre los municipios de Carmen de Carupa, Ubaté, Cucunuba, Sutatausa y Tausa.

Para la exposición de DBV (Figura 2-10) se encontraron 5/7 clústers significativos ($p < 0.05$).

1. Radio de 12.5 km ($p < 0.00$) sobre los municipios de Simijaca, Susa, Fúquene y Guachetá.
2. Radio de 6.8 km ($p < 0.01$) en el municipio de Simijaca.
3. Radio de 6.1 km ($p < 0.001$) principalmente en el municipio de Fúquene.
4. Radio de 3.6 km ($p < 0.001$) en el Suroeste de Susa.
5. Radio de 7.8 km ($p < 0.04$) en el municipio de Ubaté y parte de los municipios de Guachetá y Fúquene.

Figura 2-9 Mapa clúster de exposición a HVB-1 en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017

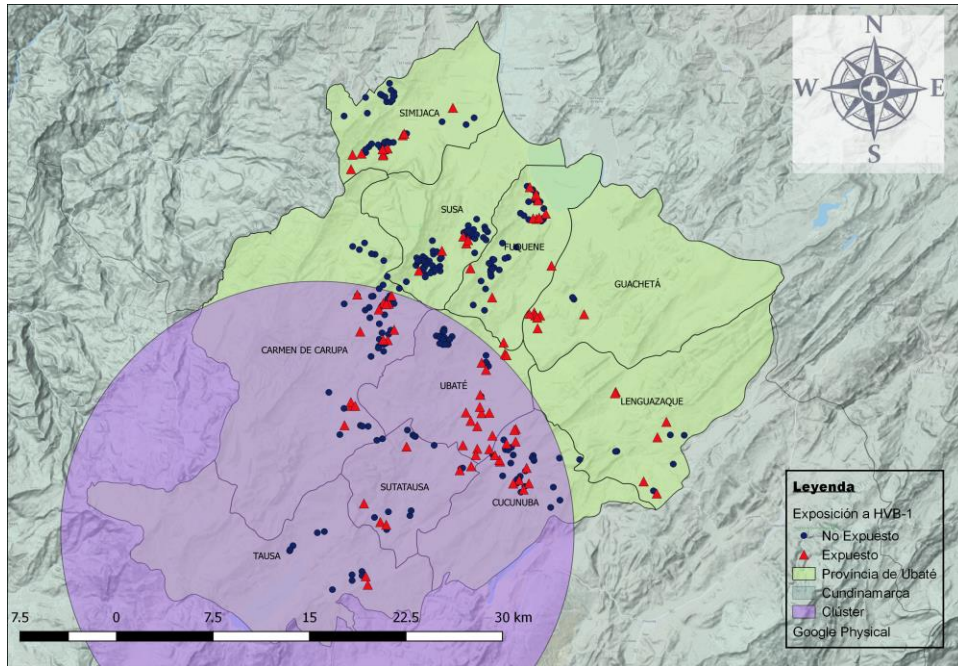


Figura 2-10. Mapa clúster de exposición a DVB en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.

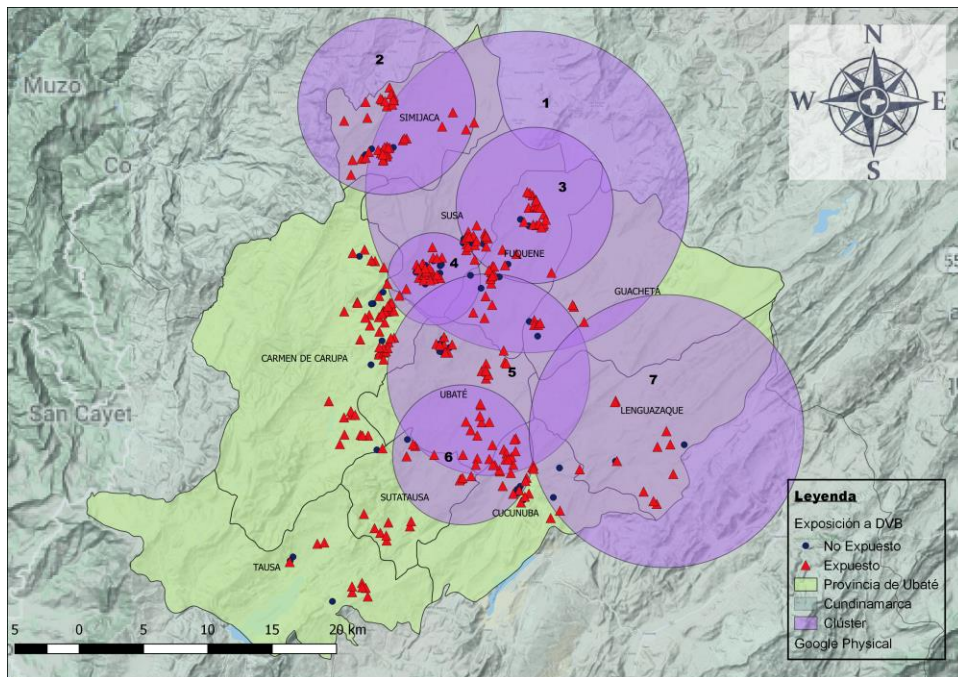


Figura 2-11. Mapa clúster de exposición a *N. caninum* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.

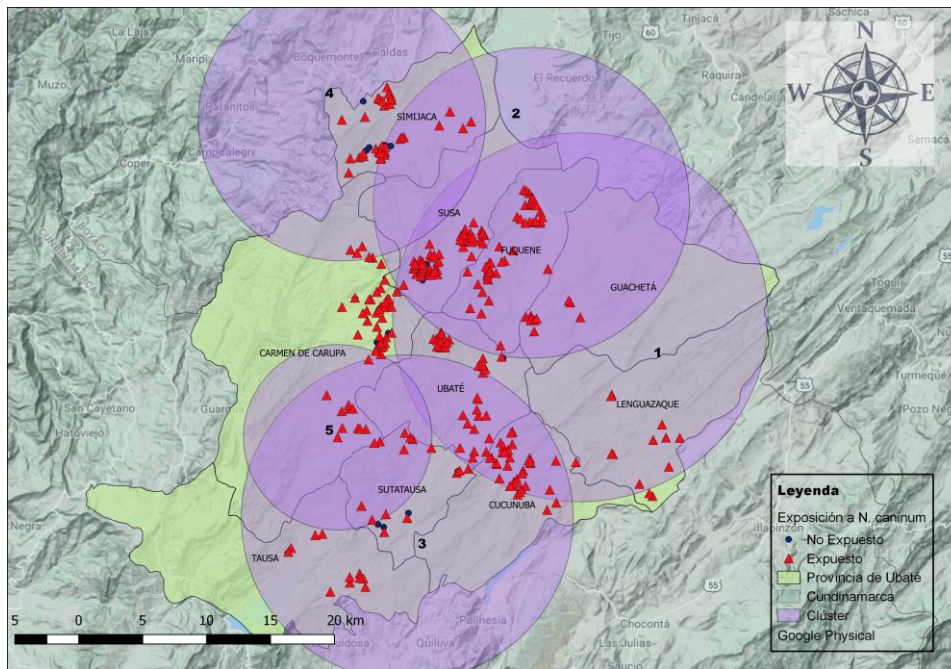
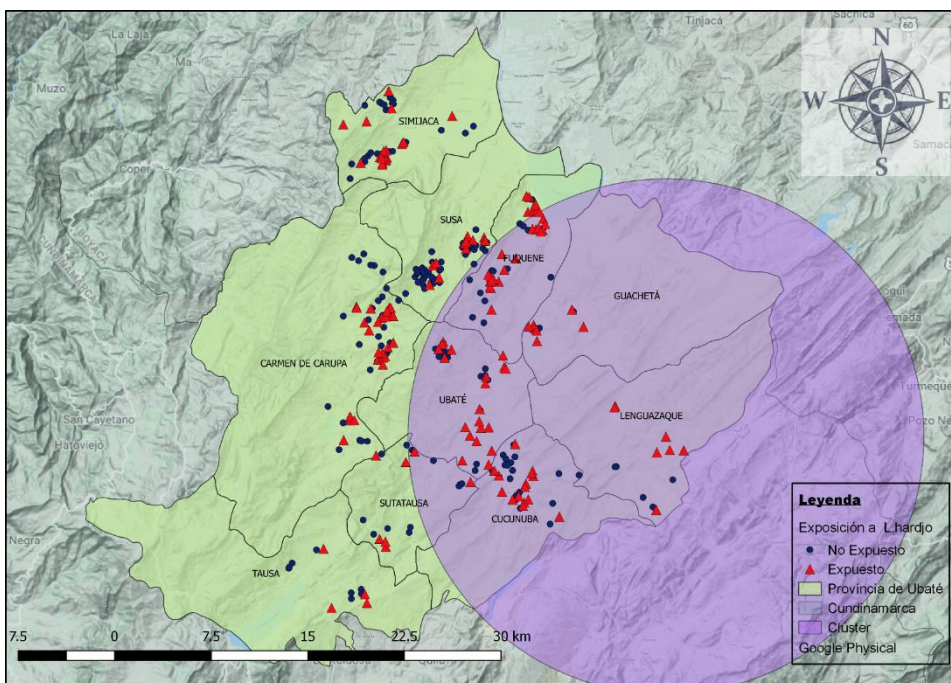


Figura 2-12. Mapa clúster de exposición a *L. hardjo* en hatos lecheros de la Provincia de Ubaté de Septiembre 2016 - Junio 2017.



Se encontraron 3/5 clúster significativos ($p < 0.05$) para la exposición de *N. caninum* (Gráfica 2-11): 1. Radio de 14.6 km y $p < 0.00$, en los municipios Susa, Fúquene, Guachetá, Ubaté, Cucunubá y Lenguazaque. 2. Radio de 12.3 km y $p < 0.00$ en Simijaca, Susa, Fúquene y Guachetá. 3. Radio de 12.9 km y $p = 0.01$ en Ubaté.

Con un radio de 19.9 km se encontró un solo clúster ($p < 0.01$) para la exposición a *L. hardjio*, en los municipios de Fúquene, Guachetá, Lenguazaque, Ubaté y Cucunuba (Gráfica 2-12).

2.6.7 Factores de riesgo asociación con la exposición a DVB, IBR, leptospirosis y neosporosis

Se seleccionaron los factores del análisis univariado con un $p < 0.2$ (Anexo B) para realizar la regresión logística y se presentan los factores de riesgo o de protección asociados con la presencia de anticuerpos en leche para cada enfermedad (Tabla 2-29). Para HVB-1 se encontraron como factores de riesgo, el uso de la inseminación ($RR=1.56$ y $p=0.02$); tener más de 7 hembras en el inventario ($RR=2.12$ y $p=0,00$) y la presentación de endometritis con $RR=1.19$ $p=0.004$). Para DVB se presentó como factor de protección los hatos que no fueron expuestos a animales PI ($RR=0.14$ y $p=0.051$), como factor de riesgo se evidencio tener más de 6 vacas en el hato ($RR=2.32$ y $p=0.018$). Para neosporosis se encontró como factor de protección la venta de animales ($RR=0.42$ y $p=0.46$); la presencia de trastornos reproductivos ($RR=2.27$ y $p=0.006$), al igual que para leptospirosis con un RR de 1.42 y p de 0.046; para esta enfermedad también se encontró que más de 6 vacas en el hato es un factor de riesgo ($RR=1.11$ y $p=0.011$).

Tabla 2-29 Resultados regresión logística binaria. Factores de riesgo asociados a cada enfermedad

Enfermedad	Variable	n	RR	IC 95%		p	
				Inferior	Superior		
HVB-1	Uso de Inseminación	No	207				
		Si	127	1.56	1.07	2.15	0.02
	Número total de Hembras Presentación de endometritis	Siete (7) o menos	188				
		Más de siete (7)	146	2.12	1.52	2.75	< 0,00
DVB	PI	No	270				
		Si	64	1.9	1.25	2.65	0.004
	Número de Vacas en el Hato	Expuesto	4				
		No Expuesto	156	0.14	0.018	0.91	0.051
Seis (6) vacas o menos		71					
	Más de seis (6) vacas	89	2.32	1.18	3.54	0.018	
<i>N. caninum</i>	Venta de Animales	No	123				
		Si	211	0.42	0.125	0.98	0.46
	Trastornos reproductivos	No	198				
		Si	136	2.27	1.56	4.49	0.006
<i>L. hardjo</i>	Trastornos reproductivos	No	198				
		Si	136	1.42	1.01	1.93	0.046
	Número de Vacas en el Hato	Seis (6) vacas o menos	164				
		Más de seis (6) vacas	170	1.55	1.11	2.07	0.011

2.7 Discusión

La medición de inmunoglobulinas en muestras de leche representa una herramienta importante para el diagnóstico y monitoreo de diferentes enfermedades a nivel mundial. Su importancia está asociada con la disminución en los costos de las pruebas, con poder evaluar a una población en una sola muestra, con la facilidad en la toma de la muestra, ligada generalmente a la ruta de recolección de la leche sin necesidad de tener una capacitación especial para su consecución, ni someter a los animales a prácticas estresantes (Lindberg & Alenius, 1999; Pritchard, 2001, 2006). Para Colombia, el uso de esta técnica puede convertirse en una estrategia importante para conocer la dinámica de diferentes enfermedades que afectan la salud de los bovinos de leche y así poder establecer su impacto en la productividad. La Provincia de Ubaté es una de las cuencas lecheras más importantes de la zona central de Colombia (FEDEGAN, 2015); convirtiéndose en una zona de gran interés de investigación para establecer el uso de la muestra de leche para el diagnóstico de las enfermedades bovinas en Colombia. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la prevalencia de HVB-1, DVB, *L. hardjo* y *N. caninum* analizando muestras de leche bovina de fincas de pequeños productores de la Provincia de Ubaté, estudiar la dinámica de estas enfermedades mediante la tasa de incidencia, establecer los factores de riesgo ligados a su presentación y la distribución geográfica de las mismas. Se realizó el seguimiento en 365 fincas de producción lechera tradicional, lo cual corresponde al 10.8 % del número total de bovinos dedicados a este tipo de producción (23.015 animales) en la Provincia de Ubaté (Gobernación de Cundinamarca, 2016).

En un estudio realizado en Pereira se tomaron 1789 muestras de suero de bovinos de 158 predios para el diagnóstico serológico de leptospirosis; en la Costa Norte se tomaron 3120 muestras, de 30 bovinos por cada finca de 104 hatos diferentes para el diagnóstico de anticuerpos de DVB, HVB-1 y leptospirosis; estos pueden ser los estudios con mayor cantidad de fincas utilizadas y número de muestras reportadas en Colombia; en esta investigación no se realizó un perfil de anticuerpos por individuo, por ende se obtuvo la información de anticuerpos de 365 hatos lo cual representa la exposición a las enfermedades objeto de estudio de 2486 animales, siendo una muestra representativa y útil para el conocimiento de la posible presencia de patógenos a nivel de una población completa (Orjuela, Navarrete, Betancourt, Roqueme, & Cortez, 1991; Zuluana, 2005). Esta investigación es la primera que evalúa la situación de enfermedades reproductivas

bovinas, que no son de control oficial, para los pequeños productores de leche, debido a que la mayoría de estudios reportan resultados de prevalencia provenientes de grandes explotaciones, donde es más fácil recolectar un mayor número de muestras individuales en una sola población; en otros casos, algunos estudios reportan muestras de diferentes predios pero con una baja cantidad de estas por cada uno de ellos, lo que podría indicar el estado sanitario individual y no de un predio o población completa. Por otra parte, es importante considerar que los pequeños productores no suelen hacer reporte de enfermedades, porque generalmente no cuentan con la asistencia técnica de un veterinario o de personal de salud calificado, que reporten habitualmente enfermedades reproductivas de importancia. Por dichas razones, es válido resaltar que este es uno de los primeros estudios en los que se evalúa la presencia de anticuerpos por hato y no a nivel de serologías individuales.

2.7.1 Prevalencia de anticuerpos

El análisis de anticuerpos que se realizó en los cuatro muestreos en el periodo comprendido entre septiembre de 2016 a junio de 2017 presentó comportamientos diferentes para cada enfermedad estudiada.

2.7.1.1 Prevalencia de anticuerpos para HVB-1

Se evidenció una prevalencia general del 27.9% (n: 102/365). En Colombia, se han encontrado prevalencias similares en el departamento de Boyacá y la Costa Norte en estudios serológicos transversales, con prevalencias a nivel de individuo de 35.6% y 32% respectivamente (X. Ochoa, Orbegozo, Manrique-Abril, Martín Pulido, & Ospina, 2012; Orjuela et al., 1991). Así mismo, se han reportado prevalencias más altas en otras regiones, entre el 59% y 90% en Antioquia, Caquetá y Valle del Cauca (Motta et al., 2012, 2013; Ruiz, Jaime, & Vera, 2010) y prevalencias menores en los Llanos Orientales (10%) y en Pasto (17.6%) (Ottea, Ravenborgb, & Hiittnerb, 1995; Quevedo et al., 2011). A nivel mundial, en muestras de leche, los resultados de prevalencia han sido mayores, variando del 51% a 84% (Felmer & Miranda, 2009; Rivera et al., 2002; Sayers, Byrne, O'Doherty, & Arkins, 2015; Van Wuijckhuise, Bosch, Franken, Frankena, & Elbers, 1998; Velasova et al., 2017). Al comparar los resultados de prevalencia general, ciclo a ciclo 20.3%, 20.6%, 19% y 19.2%, no se observa una variación importante, debido a que la exposición que se

observa, es de casos positivos que se mantienen en el tiempo de forma crónica, con una baja presentación de fincas nuevas expuestas.

2.7.1.2 Prevalencia de anticuerpos para DVB

Se encontró una prevalencia del 79.7%, resultado mucho más elevado pero no comparable a otros estudios hechos en Colombia debido a que se realizaron por individuo y no a nivel de hatos, donde la prevalencia encontrada estuvo entre el 6% y 58% (Betancur, Gogorza, & Martínez, 2007; Buitrago, Jiménez, & Zambrano, 2018; Moreno, Anastasia, & García, 2014; Motta et al., 2012, 2013; Orjuela et al., 1991; Parra, Vera, Villamil, & Ramírez, 1994; Quevedo et al., 2011; A. Vargas et al., 2018). A nivel de hato en muestras de leche en el mundo, se encuentran reportes que van desde el 43% hasta el 96% (Almeida et al., 2013; Garoussi et al., 2008; Greiser-Wilke et al., 2003; Humphry et al., 2012; Rivera et al., 2002). En Escocia se reportaron resultados del 73%, similares a los encontrados en nuestro estudio, sin embargo, el manejo de los hatos es diferente, en dicho estudio se usó la vacunación para el control de la enfermedad y fueron explotaciones de mayor tamaño, teniendo 30 vacas o más en ordeño, demostrando que la presencia de anticuerpos puede estar influenciada por diversos factores y formas de manejo de los hatos.

La prevalencia ciclo a ciclo varió entre el 60 y el 70% aproximadamente (60.5%, 68%, 59.8% y 69.6%); para la mayoría de los municipios que hacían parte de la investigación, los resultados de prevalencia estaban por encima del 50% entre ciclos (Tabla 2-17). Esta prevalencia pudo deberse, a que es característica de los pequeños productores la compra y movilización de animales, teniendo aumentando la probabilidad de ingreso o contacto con animales infectados.

2.7.1.3 Prevalencia de anticuerpos para *N. caninum*

La prevalencia general fue del 90.6%, variando entre el 75 al 100% de los hatos muestreados entre municipios; se presenta como uno de los valores más altos reportados a nivel nacional. En el 2015 se reportó 40.7% (n:57/140) de animales positivos en hatos lecheros de Ubaté y Chiquinquirá en muestra de sueros individuales; a pesar de que la prevalencia reportada es menor, se debe tener en cuenta que es por animal y no por hato. Sin embargo, en el mismo estudio, se muestra a *N. caninum*, como el patógeno de mayor diagnóstico por ELISA en los 140 animales, teniendo un 40% de participación en

enfermedades que afectan la reproducción en bovinos, seguido de Leucosis (31%) (Rubiano & Murcia, 2015). Otros reportes nacionales, presentan prevalencias a nivel de individuo entre el 10.2 al 76.9% (Cedeño & Benavides, 2013; Chaparro et al., 2016; Gómez, 2005; López, Restrepo, Restrepo, Lotero, & Murillo, 2007; Moreno et al., 2014; Motta et al., 2014; Orlando, Medellín, María, Anaya, & José, 2013; Oviedo et al., 2007; Pulido, García, & Vargas, 2016; Zambrano, Cotrino, & Jiménez, 2001). A nivel internacional, estudios con muestras de leche reportaron prevalencias del 15 al 84.2% (Bartels et al., 2005; Chanlun et al., 2002; González et al., 2011; Velasova et al., 2017). Este último reporte (84,2%), se presentó en hatos con prevalencias internas mayores al 10%, siendo una posible explicación por la cual se presen una alta prevalencia al paracito en los hatos de la Provincia de Ubaté, que a nivel de los individuos que están presentes en ordeño, halla más del 10% positivos a la enfermedad (González et al., 2011).

2.7.1.4 Prevalencia de anticuerpos para *L. hardjo*

Se presentó una prevalencia del 43.5%, similar a la encontrada en la Costa Norte de 42% y en los Llanos Orientales del 45.9%; sin embargo, se reportan prevalencias entre el 16.4% al 60.9% a nivel de individuo (Motta et al., 2014, 2012; J. Ochoa & Sánchez, 2000; Orjuela et al., 1991; Ottea et al., 1995; Zuluana, 2005). A nivel internacional en muestras de leche en Gran Bretaña se presentó una prevalencia similar del 47%, y se reportan variaciones desde 3.2% al 86%(Krzysztof & Bierowiec, 2014; Leonard et al., 2004; Miyama et al., 2018; O' Doherty, Sayers, & O' Grady, 2013; Tabatabaeizadeh et al., 2011; Velasova et al., 2017). Al evaluar los cambios de prevalencia en el tiempo, para el mes de septiembre de 2016 se encontró una prevalencia mayor a la encontrada en los siguientes meses, donde la prevalencia fue casi constante; en este mes el resultado fue casi el doble de los siguientes ciclos (Sep/16 :42.4%, Dic/16: 22.8%, Mar/17: 21.9% y Jun/17: 23.4%). Este resultado pudo deberse al cambio de uno de los técnicos del laboratorio de ELISA, debido a que las muestras del primer ciclo evaluadas para *L. hardjo* se procesaron por un técnico diferente al que realizó los siguientes procedimientos en el laboratorio, variables como el pipeteo y el manejo de los reactivos, pueden variar los análisis, lo cual es coherente con los resultados, en el primer ciclo se obtuvo una prevalencia del 42.4%, mientras que para los siguientes ciclos la prevalencia fue del 22.8%, 21.9% y 23.4% respectivamente, siendo una prevalencia similar entre los últimos ciclos. O' Doherty, Sayers, y O' Grady 2013 encontraron una alta prevalencia en la zona, pero sin gran variación entre muestreos, 81%,

84%, 84%, y 84% para marzo, junio, agosto y noviembre de 2009 respectivamente, indicando al igual que en este estudio, la posible presencia de una enfermedad crónica, que mantiene la exposición dentro de cada hato y así de forma constante, las mismas fincas positivas a través del tiempo, representado prevalencias casi iguales a través del tiempo.

2.7.2 Dinámica de anticuerpos y categorización de los hatos dependiendo a su nivel de exposición

2.7.2.1 Dinámica y categorización para HVB-1

Al evaluar la tasa de incidencia (TI) de HVB-1, se encontró que, de ciclo a ciclo de forma constante, aparecen alrededor de 2 fincas nuevas con anticuerpos por cada 100 fincas muestreadas al mes, el 72.1% (n:264) de las fincas se clasificaron como “siempre no expuestas”, lo que demuestra que la exposición a HVB-1, se dio en pocas fincas, ya que la mayoría no presentó evidencia de haber tenido contacto con el virus; únicamente el 10.7% se clasificó como “siempre expuesta”, es decir que de las 365 fincas evaluadas, únicamente 39 fincas presentaron exposición en los 4 muestreos, siendo un resultado bajo. En Guachetá se encontró que del primer ciclo al segundo y del tercero al cuarto, aparecieron 5.6 casos nuevos por cada 100 fincas/mes, siendo mayor que el promedio de la región. A nivel mundial no se encontró un estudio que permita comparar la TI en muestras de leche para HVB-1; sin embargo, en Trento, Provincia de Italia, en el plan de erradicación de HVB-1, se dividieron los hatos en positivos y negativos, además se subdividieron por el número de animales, < 10, 11 a 20, 21 a 50, de 51 a 100 y >100, tomaron muestra serológicas de animales mayores de 12 años anualmente desde el año 2002 al 2005, encontraron una incidencia de hato del 0.75% (n:12/2792) y 5.05% (n:112/2218) en los hatos negativos y positivos respectivamente, al comparar la incidencia por tamaño de la explotación, se reporta hatos negativos con menos de 20 animales una incidencia de 0.39% (n:2/518), y para los hatos positivos 2.29% (n:10/430) frente a los hatos con más de 50 animales que presentan una incidencia mayor, de 2.26% (n:3/133) y 8.28 (n:36/450) para los hatos negativos y positivos respectivamente, concluyendo que los hatos de mayor tamaño y seropositivos van a tener mayor probabilidad de presentar casos nuevos en comparación de los hatos pequeños y negativos, debido a que mayor sea el hato, mayor es la probabilidad de contacto y de aumentar las condiciones de estrés en los

animales que eleva la presentación de los casos; esta condición puede ser una de las razones por la cual, el virus tiene una baja presentación de casos nuevos en los hatos estudiados en la Provincia de Ubaté, debido a que son hatos pequeños y con una baja prevalencia (Nardelli et al., 2008).

La poca variación en la prevalencia y TI, también, puede deberse a una baja presencia del patógeno en la zona o a pocos animales positivos por finca sin que la prueba logre detectarlos; no obstante, se necesita que haya una prevalencia de 10 a 15% animales positivos por muestra de 50 animales, para que la prueba detecte anticuerpos de al menos 5 animales positivos; sin embargo, el promedio de las fincas trabajadas fue solo de 6 ± 5.8 animales en el hato, por ende la detección de un solo animal positivo debe ser posible (Nylin, Strüger, & Rønsholt, 2000; Raaperi et al., 2014).

Por otra parte, los anticuerpos detectados también pueden ser vacunales, ya que a pesar de que la mayoría de los productores no usan vacunas diferentes a las de control oficial (brucelosis y fiebre aftosa), el 47.6% compra animales en las plazas de mercado y/o pueden provenir de fincas grandes donde sí se usen vacunas contra enfermedades reproductivas; debido a que la cantidad de animales que presentan esta condición es baja, no genera gran variación en la dinámica ciclo a ciclo. Además, la prueba ELISA que se usó, no distingue entre anticuerpos vacunales o por infección (Raaperi et al., 2014) y la única forma de reconocer los anticuerpos vacunales, sería mediante el uso de vacunas con marcadores (Wellenberg et al., 1998). La latencia del virus puede ser otra causa que dificulta el diagnóstico, pero el uso de muestreos repetitivos aumenta la probabilidad de poder detectar los anticuerpos al virus (Raaperi et al., 2014; Straub, 1990).

2.7.2.2 Dinámica y categorización para DVB

La TI fue alta y varió entre ciclos, para diciembre de 2016 fue 11.2, marzo 2017 de 7.7 y en junio de 2017 de 14.8 por cada 100 fincas/mes, indicando una moderada exposición al virus en la zona. La variación puede deberse a que la mayoría de predios de la Provincia presenten una prevalencia media, ya que el resultado depende de la composición de las vacas que aportan a la muestra de leche; los hatos que siempre son negativos o siempre positivos, presentan una alta probabilidad que se encuentren libres de la enfermedad o en caso contrario, una infección activa. Sin embargo, cuando hay una prevalencia mixta los resultados pueden variar entre ciclos, indicando que entre muestreos se puedan encontrar

resultados negativos que cambien a positivos al siguiente muestreo o viceversa, dependiendo de la composición de las vacas que ingresan a ordeño; este resultado se evidenció en el 36.4% (n:133) de las fincas evaluadas que se clasificaron como “intermitentes”, estas fincas que pueden presentar anticuerpos debido a vacas con anticuerpos por vacunación o de memoria, modificarán el resultado de la leche de tanque cuando se ordeñen o no; si por el contrario la finca presenta vacas que tengan anticuerpos por una infección activa, lo más seguro es que con el tiempo la finca pase de ser intermitente a ser una finca “siempre expuesta”, como es el posible caso del 43.3% (n:15) de los hatos que se clasificaron de esta forma. Este cambio a través del tiempo demuestra la importancia de hacer muestreos repetidos en el tiempo, que permitan clasificar los hatos y tomar medidas diagnósticas como las serologías individuales para el diagnóstico y eliminación de animales positivos o iniciar un programa de vacunación (Velasova et al., 2017). El número de animales dentro de un hato se vuelve un factor que influye la presentación de casos nuevos para DVB, como se reportó en Michoacán - México, donde se evaluaron 62 hatos, haciendo un seguimiento mensual entre diciembre de 2001 a noviembre de 2002, de animales mayores a seis meses, encontrando una incidencia acumulada de 12.9% por individuo, teniendo mayor probabilidad de presentar casos nuevos, los hatos con más de 25 animales, debido a que aumenta el contagio por contacto en hatos de mayor tamaño. Siendo este un factor va influenciar la presencia de animales que se infecten por primera vez y cambien el resultado de la muestra de leche de negativo a positivo, siendo una probable explicación a la intermitencia y al aumento de casos mes a mes en la Provincia de Ubaté (Solorio, 2004).

2.7.2.3 Dinámica y categorización para *N. caninum*

En el mes de diciembre de 2016 se presentó una TI de 14.4, en marzo de 2017 de 14.0 y en junio de 2017 de 20.4 casos nuevos por cada 100 fincas/ mes (Figura 2-3), evidenciando una alta aparición de casos nuevos entre periodos, encontrando de 14 a 20 casos nuevos entre ciclos. Este hallazgo podría indicar una alta infección del parásito en las fincas que se estudiaron, introduciendo la enfermedad probablemente mediante la adquisición de vacas positivas que transmiten la enfermedad de forma vertical y mantienen principalmente la enfermedad en el hato o adquiriendo la enfermedad mediante el consumo de pasturas contaminadas con heces de caninos que hayan consumido placentas o fetos contaminados debido a que al ser fincas pequeñas, no tienen establecidos protocolos de

eliminación de este material biológico, y es muy común que se dejen en los potreros o se eliminen a través de las fuentes del agua, diseminando con mayor facilidad la enfermedad. Es importante resaltar la transmisión vertical como la fuente más importante de mantenimiento de la enfermedad dentro de un hato, en un estudio en Pernambuco – Brasil, realizado en ovejas preñadas de raza Doorper y Santa Inés, se realizó muestreos serológicos mensuales de 37 ovejas por un periodo de seis meses encontrando una incidencia de 62.2% (n:23/37), además, en el líquido pre-calostroal mediante inmunofluorescencia indirecta, se estableció infección vertical a títulos mayores de 25, encontrando 11% (n:1:9) de probabilidad de que la madre pase el parásito a la cría (Filho, Oliveira, Andrade, Silva, & Kim, 2017).

En un estudio similar al de la Provincia de Ubaté, en el cual no se evaluó la tasa de incidencia, sino el número de casos nuevos en un periodo de 9 meses en el año 2009, se encontró una incidencia acumulada menor al 10%, lo que indica una baja presentación del parásito para ese estudio (Doherty et al., 2013). En el proyecto se clasificó el 64,4% (n:235) de los hatos como “intermitentes”, lo cual puede ser la causa de la alta presentación de casos entre ciclos, ya que las fincas tendrán resultados negativos y positivos a través del tiempo, dependiendo de la composición del hato; además, es claro que la enfermedad está presente en la mayoría de la Provincia, debido a que únicamente el 9.3% (n:34) de los predios presentaron resultados negativos en los 4 muestreos o “siempre no expuestos”.

2.7.2.4 Dinámica y categorización para *L. hardjo*

Al evaluar la TI de *L. hardjo*, se encontraron valores bajos de aparición de nuevos casos (0.8, 2 y 3 casos nuevos por cada 100 fincas/mes), debido a ello, se sugiere una prevalencia media-baja, con una probable infección crónica de las fincas expuestas, por lo que no se observa una variación notoria entre ciclos; el 56.4% (n:204) de las fincas se diagnosticaron como “siempre no expuesto” mientras que el 15.9% (n:58) fueron categorizados como “siempre expuesto”; es decir, el 72.3% (suma de siempre no expuestos y siempre expuestos) de los hatos fueron constantes en sus resultados en los 4 muestreos, y el 27.7% es la cantidad de fincas que aportan el número de casos nuevos entre fincas. O’ Doherty, Sayers, y O’ Grady 2013, evaluaron la cantidad de casos nuevos entre ciclos en Irlanda en una zona de alta prevalencia (84%), en marzo, junio, agosto y noviembre de 2009. La incidencia reportada fue del 12%, 9% y 9% entre ciclos, mostrando

que al encontrar una infección crónica y establecida en una zona, la presencia de casos nuevos es menor, resultado similar a lo encontrado en este estudio.

2.7.3 Análisis espacial de las prevalencias y clúster

2.7.3.1 Análisis espacial para HVB-1

La prevalencia varió entre el 8 al 53.8% entre municipios para HVB-1 (Tabla 2-25). El municipio con mayor prevalencia fue Guachetá, con prevalencia de 38.5% (5/13) para el primer muestreo, aumentando al 45.5% (5/11), debido a la salida de dos fincas (posiblemente negativas) del proyecto; se mantuvo igual para el tercer muestreo y bajó nuevamente al 36.4% (4/11) al variar una finca de positiva a negativa (posiblemente por la salida de un animal positivo). Este municipio tuvo 3.45 veces más riesgo de presentar exposición a HVB-1, en comparación con el municipio de Susa. Una posibilidad de que este municipio presente mayor prevalencia, es debido a que en esta zona se tiene la tendencia a comprar animales de fincas de grandes productores, que tienen la rutina de vacunar contra IBR, manteniendo anticuerpos de memoria a la vacuna. Por otra parte, este municipio fue uno con los que menor representantes conto (n:13), teniendo menor variación en sus prácticas de manejo, al ser productores agrupados en zonas muy cercanas, por ejemplo, pueden exponerse al virus por el uso de semen sin certificación o el ingreso del técnico que insemina, que es el mismo, para la mayoría de las fincas., Sin embargo, el municipio de mayor riesgo fue Sutatausa con 5.1 veces mayor probabilidad de presentación de anticuerpos en esta zona, este municipio se caracteriza, en el caso contrario de Guacheta, en usar toros , como el principal método para lograr preñar las vacas (88.9%), debido a que es una zona, en la que es difícil encontrar personal calificado, que insemine o que se tengan termos de nitrógeno, es por eso que se usa la monta natural y el préstamo de los machos entre las fincas, ayudando a la diseminación del virus entre hatos. Con una probabilidad de riesgo similar a la de Guachetá (RR=3), estuvieron los municipios de Cucunuba, Lenguazaque y Ubaté (Tabla 2-25); al incluir el análisis geoespacial se determinó que el único clúster (Figura 2-9) identificado para esta enfermedad incluye los municipios de Sutatausa, Cucunubá y Ubaté, nombrados anteriormente, además de Carmen de Carupa y Tausa ($p < 0.00$), este cluster reúne la mayor cantidad de casos a IBR al compararlo con la zonas fuera de este, mostrando una gran cantidad de estos casos en el municipio de Ubaté, siendo este, el municipio principal

y de referencia de la Provincia de Ubaté, lugar donde se llevan las principales ferias y plazas de mercado de la región, es en este lugar donde se adquiere la mayoría de animales que van a ser parte del inventario de los pequeños productores, que prefieren adquirir animales que proviene de fincas de grandes productores, en vez de criar sus remplazos, debido a que cuentan con menor cantidad de terreno, limitando la posibilidad de poder criar y levantar sus propios remplazos. Debido a ello el municipio de Ubaté, es un posible punto de venta y adquisición de animales expuestos a IBR.

2.7.3.2 Análisis espacial para DVB

Se encontró 3.29 y 3.44 veces más riesgo de exposición al virus de la DVB para los municipios de Carmen de Carupa y Sutatausa en comparación con el municipio de Guachetá. En ambos casos se presenta una prevalencia mayor al 80% (Tabla 2-26). Ninguno de los dos municipios presentó un resultado significativo en el análisis de clúster, sin embargo, en Carmen de Carupa se presentó uno de los resultados de exposición de PI y es el municipio con mayor prevalencia de aborto (3.3%). En el análisis de clúster (Figura 2-10), se encontraron 5 resultados significativos que incluyen 6 de los 10 municipios, debido a la alta prevalencia en general. Llama la atención el clúster # 3 de 6.1 km de radio, principalmente en el municipio de Fúquene y el # 5 de 7.8 km de radio en el municipio de Ubaté y parte de los municipios de Guachetá y Fúquene; esto puede estar asociado a que en Fúquene se encontró un animal PI y en Ubaté se presentaron dos. La alta prevalencia generalizada de anticuerpos en la Provincia de Ubaté, puede deberse a infecciones activas, como se demuestra por el diagnóstico positivo a exposición en algunas fincas de animales PI; posiblemente también, a la presencia de anticuerpos vacunales de animales que son comprados y que han podido ser inmunizados con biológicos con virus vivo o con vacunas inactivadas (D. S. Vargas, Jaime, & Vera, 2009), que han demostrado interferencia a pesar de usar pruebas diagnósticas para la detección de la proteína p80. Otra posible razón puede ser el mantenimiento de anticuerpos de memoria luego de una infección o por vacunación, ya que se ha reportado que pasar de una exposición media a negativa, dura alrededor de 3.5 años (Booth et al., 2013; Eiras, Arnaiz, Sanjuán, Yus, & Diéguez, 2012; Gonzalez et al., 2014; Greiser-Wilke et al., 2003; Sayers, Sayers, Graham, & Arkins, 2015).

2.7.3.3 Análisis espacial para *N. caninum*

Se presentó una alta prevalencia del 75% al 100%, el municipio de menor presentación fue Sutatausa, que al compararse con los demás municipios, no se encontró un riesgo significativo, debido probablemente, a que es una enfermedad con una alta prevalencia en todos los municipios, teniendo todos un alto riesgo de presentar exposición a la enfermedad, en el límite con un $p=0.05$, se encuentran los municipios de Ubaté y Carmen de Carupa que presentaron $RR= 3.10$ y 3.09 respectivamente, indicando mayor riesgo de presentar la enfermedad que Sutatausa. El análisis de clúster, revela 3 aglomeraciones que cubren la mayoría de la Provincia (Figura 2-11), debido a que se encontró una alta exposición en todos los municipios de estudio. Al evidenciar que no hay un riesgo dirigido en un solo municipio, sino que las fincas evaluadas en el proyecto, la mayoría presenta exposición al parásito, esto puede ser debido a que la mayoría de productores no tiene establecidos prácticas sanitarias que disminuyan la transmisión del parásito, como el manejo adecuado de los residuos posparto o la disposición de los abortos, estos son desechados en las fuentes de agua o se dejan en los potreros a disposición de caninos que pueden diseminar el parásito. Por otra parte, los animales que abortan, que pueden ser muy posiblemente vacas positivas a *N. caninum*, que son la principal fuente de mantenimiento de la enfermedad por su transición de forma vertical, en pocas ocasiones son descartadas, debido a que al ser pequeños productores, no cuentan económicamente con la facilidad de tener remplazos y de desechar un animal en producción que representa el sustento diario.

2.7.3.4 Análisis espacial para *L. hardjo*

Se encontró un solo clúster que incluye las zonas de mayor prevalencia y además incluye el municipio de Ubaté, que mostró 3.11 veces mayor riesgo que el municipio de Sutatausa que presentó la menor prevalencia (Tabla 2-28 – Figura 2-12). Sin embargo, el clúster no incluye el municipio de Carmen de Carupa, que tuvo 3.48 veces mayor riesgo; probablemente como se observa también en los mapas de las otras enfermedades, por la distribución de las fincas que solo ocupan una pequeña zona del occidente del municipio, debido a ellos al ser un municipio de gran tamaño, pero solo una pequeña zona de este representa casos, va tener una menor probabilidad de ingresar a un cluster, debido a que por ubicación no va ser representativo de la zona.. Miyama et al. 2018 realizó un análisis de clúster en Japón, para relacionar la ubicación con la presencia de *L. hardjo*, encontrando

un agregado sobre la región de Hokkaido ($p < 0.001$), esta zona se caracterizó por ser la zona de mayor producción y ser proveedora de animales para otros lugares, además por tener un mayor número de animales en cada hato, aumentando la probabilidad de contacto y contagio de enfermedades. En nuestro estudio se encontró un único clúster que incluye la zonas de mayor producción lechera y fincas de mayor tamaño, como Fúquene, Cucunubá y Ubaté; en este último se ubica la plaza de mercado principal de la Provincia, donde se venden y compran la mayor cantidad de animales que ingresan a los predios de las explotaciones de los demás municipios, convirtiéndose posiblemente en el principal sitio de distribución de animales portadores de diferentes enfermedades como *L. hardjo*. Sumado a esta situación, los productores no solicitan, ni realizan perfiles serológicos de los animales que se adquieren, ni realizan cuarentena.

2.7.4 Factores de riesgo asociados con la presencia de las enfermedades

2.7.4.1 Factores de riesgo asociados HVB-1

El uso de inseminación (RR: 1.56) se asoció con la presentación de anticuerpos a HVB-1, presentando 1.56 veces más riesgo que las fincas que usan toro. Se ha reportado el comercio y uso de semen positivo a HVB-1, como una fuente importante de introducción del virus a los hatos libres (Ackermann & Engels, 2006; Kupferschmied, Kihm, Miiller, & Ackermann, 1986). En los hatos analizados de la Provincia, el 38% usa únicamente la inseminación artificial y el 39.2% un sistema mixto; al ser productores pequeños, no hacen inversión en semen de toros certificados, que generalmente es importado por lo cual se exige que sea material libre de enfermedades como HVB-1. Los pequeños productores tienden a usar pajillas económicas, de toros de origen nacional, que ofrecen los técnicos inseminadores de la zona, pidiendo únicamente que sean de una raza lechera como Holstein, jersey o normando; siendo una posible e importante fuente de diseminación del virus. En el estado de Rio Grande del sur, Brasil, se reportó el uso del semen como un factor de riesgo de RR=2.82; sin embargo, en todas estas fincas se usó semen certificado, a pesar de no reportar cifras concretas; (Almeida et al., 2013), propuso como posible fuente de infección, los técnicos que pueden transportar el virus como fómites a través de los utensilios como las botas o pistolas de inseminación. Es posible que esto ocurra también en la Provincia de Ubaté, debido a que las fincas al ser pequeñas no cuentan con un

inseminador único para la explotación. Este trabajo lo realizan técnicos que hacen múltiples visitas al día, sin ningún protocolo de higienización de los materiales, ni la ropa que usan.

La presentación de endometritis (RR: 1.9) se determinó como otro factor de riesgo para la presentación de HVB-1. El uso de semen contaminado con el virus puede causar endometritis, cervicitis, secreción muco-purulenta y disminución en la tasa de concepción; otra posible razón es la entrada de bacterias en el útero, concomitantes a la presencia del virus que genera inflamación del endometrio debido al efecto citopático que tiene sobre la mucosa. (J. Miller, 1991; J. M. Miller & van der Maaten, 1984; Nandi, Kumar, Manohar, & Chauhan, 2009; Parsonson & Snowdon, 1975). La prevalencia de endometritis promedio de la Provincia de Ubaté fue baja, de 2.2% (Tabla 2-16); se presentaron mayor número de casos en los municipios de Cucunuba (4.2%) y Tausa (4.3%), probablemente asociado a la exposición al virus.

2.7.4.2 Factores de riesgo asociados DVB

Se presentó como factor de protección, las fincas que no estuvieran expuestas a animales PI (RR: 0.14, p: 0.051); a pesar de que el nivel de significancia se presenta sobre el límite, posiblemente por el bajo número de hatos expuestos (4 hatos) a animales positivos. Sin embargo, es un resultado importante para el conocimiento de la enfermedad. Se ha identificado a nivel mundial que la presencia de animales persistentemente infectados (PI), son los encargados de mantener la infección dentro de una explotación, siendo el objetivo de detección para el control de esta enfermedad (Lanyon et al. 2014). A nivel mundial se ha usado el modelo de Suecia y Reino Unido, en las muestras de leche, donde se clasifican los hatos en 4 categorías de acuerdo a la DO de cada muestra; los hatos categorizados en el último nivel (categoría 3 o alto-positivo), presentan una alta probabilidad de tener un animal PI. Esta clasificación no se pudo hacer en este trabajo, debido a que los parámetros de densidad óptica para clasificar los hatos como negativos no coincidían con los niveles usados como referencia para este estudio de la prueba ELISA de IDEXX p80; sin embargo representa una buena oportunidad para futuros trabajos para estandarizar los niveles de DO en muestras de leche por hato y la cantidad de animales expuestos que aportan a esa muestra, que es el objetivo de esta clasificación y así establecer parámetros ideales para nuestro país. (Greiser-Wilke et al., 2003; Pritchard, 2001). Se registra entre 10 a 52% de hatos con una posible presencia de PI a nivel mundial; no obstante, la clasificación por niveles, es una guía de una posible presencia de un animal PI, por ende, la prevalencia

puede ser menor, debido a que se usa la DO del resultado de una prueba ELISA en leche de tanque, como la posible presencia de animales PI y no el diagnóstico individual por serología de antígeno, que asegure que un hato tiene PI que puede confundirse, con una alta cantidad de anticuerpos por exposición al virus o de vacunación. (Almeida et al., 2013; Garoussi et al., 2008; Humphry et al., 2012; Rivera et al., 2002). En nuestro trabajo se encontró una prevalencia de 2,4% de animales PI (n: 4/169), indicando la posible presencia de una infección activa del virus de la DVB, por consiguiente, la principal recomendación es hacer el diagnóstico y eliminar los animales positivos al antígeno y así disminuir la probabilidad de infección y propagación del virus dentro de un hato. En este estudio se tomaron muestras de 460 animales menores de un año de 169 fincas, para diagnóstico serológico de antígeno para DVB; se identificaron 5 animales positivos (4 fincas). En el municipio de Carmen de Carupa se encontró una finca con un animal PI, en Fuquene otro animal PI y en Ubaté dos fincas con animales PI, una de ellas con 2 animales positivos. Dos de las cuatro fincas con PI se clasificaron como fincas con exposición a DVB, incluyendo la finca con dos animales positivos. Las fincas clasificadas como no expuestas pero con la presencia de animales PI, pueden deber, este resultado, a la diferencia en tiempo entre la toma de muestra de leche y la muestra de sangre, debido a que el ternero o su madre, pueden haberse vendido; por esta razón, los programas de erradicación recomiendan tomar las muestras de leche al tiempo que las muestras de animales jóvenes (Booth & Brownlie, 2016).

2.7.4.3 Factores de riesgo asociados *N. caninum*

La presencia de anticuerpos a *N. caninum*, se relacionó con la manifestación de trastornos reproductivos (RR: 2.27), como la presencia de aborto, siendo la patología reproductiva de mayor presentación. Esta relación también se evidencia en otros estudios en muestras de leche y suero sanguíneo, donde se asocia la presencia del parásito y el aborto (Bartels et al., 2005, 2006; Corbellini et al., 2006; Fonseca, Leotti, Borba, Silva, & Corbellini, 2017; González et al., 2011; Nicolino, Fonseca, Lopes, Rodrigues, & Haddad, 2017; Sanhueza, Heuer, & West, 2013; Wilson et al., 2016). Se evidenció una prevalencia de aborto de 2.5% \pm 0.67, para este estudio, siendo *N. caninum*, una de las más probables causales, como lo evidencio González-Warleta et al. 2011, que encontraron en muestras de leche individuales, que las vacas clasificadas con baja positividad a anticuerpos a *N. caninum*, tenían 5.99 ($p < 0.001$) más riesgo de presentar un aborto en comparación con las vacas

clasificadas como negativas, y su riesgo aumento al 12.81 ($p < 0.001$), cuando se clasificaron como altamente positivas al parásito. La venta de animales se asoció como factor de protección (RR: 0.42); la categoría de animales de mayor venta fueron los animales no productivos, lo que resalta la importancia de descartar animales débiles, enfermos, de baja producción láctea o que no preñan o abortan, que pueden ser animales positivos y que perpetúen la infección en el hato. Este hallazgo es apoyado por un estudio holandés, donde se encontró 1.73 (IC 95%: 1.37-2.19) mayor probabilidad de descartar animales, en hatos de alta prevalencia al parásito (Bartels et al., 2006); en otro estudio se encontró 1.43 (IC 95%:1.15-1.79) más riesgo de descartar animales con ineficiencia reproductiva, seropositivos a *N. caninum* (Tiwari et al., 2005). Thurmond y Hietala 1996 encontró que las vacas seropositivas que abortaron fueron sacrificadas 6.3 meses antes que las vacas seronegativas y tuvieron un riesgo 1.6 veces mayor de ser sacrificadas, en comparación con las vacas seronegativas; además en este mismo estudio, las vacas que se descartaron por baja producción de leche y seropositivas, el riesgo de ser sacrificadas fue el doble que para una vaca seronegativa ($p:0.007$).

2.7.4.4 Factores de riesgo asociados *L. hardjo*

La exposición a *L. hardjo* se asoció con trastornos reproductivos (RR: 1.42) en la Provincia de Ubaté. El aborto fue el trastorno de mayor presentación, aunque también se reportaron casos, de momificaciones, nacimiento de animales débiles o muertos y retención de membranas fetales; su prevalencia fue muy baja, debido probablemente al no reporte de los eventos y a la falta de costumbre de llevar registros por parte de los productores. Diferentes estudios asocian la presencia de anticuerpos de *leptospira sp* a pérdidas o trastornos reproductivos; la mayoría de estos, usan la técnica de microaglutinación (MAT), debido a que es la prueba de oro. Sin embargo, la detección de anticuerpos por ELISA, es muy útil, más práctica y económica, y ha permitido establecer que dicha bacteria está ligada a pérdidas reproductivas en hatos con una alta densidad de población, donde se facilita la transmisión de la enfermedad por contacto y lugares inundables (Dhaliwal, Murray, & Ellis, 1996; Fávero et al., 2017; Genç, Otlu, Şahin, Aydin, & Gökce, 2005; Grooms, 2006; Prescott, Miller, Nicholson, Martin, & Lesnick, 1988; Sanhueza et al., 2013). En Santa Catarina, estado de Brasil, se encontró una prevalencia de 6.44% en vacas lecheras y se reportó que hay 8 veces mayor riesgo en los animales positivos a presentar trastornos reproductivos como el aborto, la muerte fetal y la baja fertilidad (Fávero et al., 2017). En

un estudio de casos/controles, se encontró un OR: 1.84 para *L. hardjo* asociado a pérdidas fetales usando como título límite ≥ 1 : 384 (Sanhueza et al., 2013).

2.7.4.5 Número de animales como factor de riesgo para HVB-1, DVB y *L. hardjo*

El número total de hembras en el hato se vio asociado a la presentación de las enfermedades con excepción de *N. caninum*. Es interesante considerando que DVB, HVB-1 y *L. hardjo* son enfermedades que se diseminan por contacto entre animales, a diferencia de la neosporosis, donde los animales adquieren la enfermedad principalmente de forma vertical u oro-fecal (Dubey & Schares, 2006). Se halló un RR de 2.12 para fincas con más de siete hembras para HVB-1; RR de 2.31 y 1.55 para fincas con más de 6 animales en el hato, para DVB y *L. hardjo* respectivamente. Similares resultados se han encontrado en diferentes estudios, que atribuyen este resultado a que al haber mayor número de animales, aumenta el contacto y la transmisión de enfermedades por tener mayor densidad animal por unidad de área; también se puede deber a una mayor susceptibilidad, debido a que hatos más grandes presentan mayores niveles de estrés por manejo, como lo reporta un estudio en Irlanda, que muestra una relación directa en la presentación de *L. hardjo* con hatos de más de 30 bovinos con un $p < 0.01$ a una prevalencia del 79%. Otro ejemplo se reporta en Escocia, señalando el tamaño del hato como variable continua asociada a la presencia de anticuerpos contra DVB (Felmer & Miranda, 2009; Humphry et al., 2012; Leonard et al., 2004; Miyama et al., 2018; Rivera et al., 2002; Tabatabaeizadeh et al., 2011; Van Wuijckhuise et al., 1998). Sin embargo, se presentan reportes donde el número animales no fue significativo, cuando se presentaron bajas prevalencias, como lo reportado por (Krzysztof & Bierowiec, 2014). Este estudio, realizado en 309 hatos de Polonia, reportó una prevalencia de 3.2% a leptospirosis y dividieron los hatos por tamaño en ≤ 50 , 51-100, 101-500 y > 500 vacas; al hacer el análisis estadístico no se encontró relación entre el tamaño con un $p = 0.544$, a pesar de que se encontró una mayor prevalencia en los hatos de más de 50 bovinos. En este mismo estudio se encontró una relación inversa, para el caso de HVB-1, donde los hatos de menor tamaño, con menos de 30 animales, reportaron DO mayores, debido probablemente a que se presenta menor dilución de la muestra (Rivera et al., 2002).

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

La leche de cantina, es una muestra confiable para la detección de anticuerpos a IBR, DVB, leptospirosis y neosporosis, permitiendo encontrar datos de prevalencia, dinámica y factores de riesgo.

Se estimó la prevalencia a nivel poblacional de enfermedades de no control oficial en la Provincia de Ubaté y en cada uno de sus municipios, mediante el uso de leche de cantina.

Se estimó como factores de riesgo el tamaño del hato, el uso de la IA, la presencia de endometritis y los trastornos reproductivos, y como factores de protección la venta de animales y los hatos no expuestos a PI, ligados a la exposición a IBR, DVB, leptospirosis y neosporosis.

El estudio permitió establecer en muestras de leche de cantina, que hay una exposición a las enfermedades de estudio sugiriendo estudios futuros que permitan establecer o no la presencia de una infección activa.

Se pudo establecer la dinámica de las enfermedades, mediante los muestreos repetidos en el tiempo, tomando la tasa de incidencia como medida epidemiológica, encontrando una baja presentación de casos nuevos para IBR y Leptospirosis, y un alto número para DVB y neosporosis.

Se graficaron los mapas representativos de la exposición a las diferentes enfermedades y su distribución en la Provincia de Ubaté y cada uno de sus municipios, y se encontró un mayor riesgo por ubicación en los municipios de Ubaté, Sutatausa y Carmen de Carupa.

3.2 Recomendaciones

Usar las muestras de leche que se toma en los centros de acopio o en los camiones de recolección (muestra de calidad), para el diagnóstico de exposición de diferentes enfermedades, que afectan la productividad de los hatos bovinos

Implementar la muestra de leche como prueba tamiz de forma continua y permanente, para establecer la presencia de diferentes enfermedades a nivel de regiones y luego a nivel de país

Fomentar el uso de la tasa de incidencia para evaluar la presentación y dinámica de una enfermedad

Es importante y necesario mejorar las prácticas de bioseguridad en la región estudiada, evitando principalmente la movilización de animales, compra, y el control de personal ajeno a la finca como los inseminadores

A. Anexo: Formato de sanidad



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

INNOVACIÓN, CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTORES DE LECHE EN LA PROVINCIA DE UBATÉ CUNDINAMARCA
Sanidad mensual

Fincas: _____ Código _____ Fecha: _____

Inventario

HEMBRAS		MACHOS	
TERNERAS		JOVENES	
LEVANTE		TOROS	
NOVILLAS VIENTRE			
HORRO			
HATO			
TOTAL HEMBRAS		TOTAL MACHOS	
TOTAL INVENTARIO:			

Bioseguridad

- Compró animales? Sí No
- Si compró, indique qué categoría de animales (señale con X):
Vacas Cargadas _____ Vacas vacías _____ Terneras _____ terneros _____
Novillas cargadas _____ Novillas vacías _____ Otro _____
e identificación _____
- Si compro, solicito que fueran libres de: Brúcela _____ Tuberculosis _____
- Si compro, realizo cuarentena? Sí No
- Vendió animales? Sí No
- Si vendió, indique qué categoría de animales (señale con X):
Vacas Cargadas _____ Vacas vacías _____ Terneras _____ terneros _____
Novillas cargadas _____ Novillas vacías _____ Otro _____
e identificación _____ Motivo _____
- Hubo movilización entre fincas de animales? Sí No, Porque: _____
e identificación _____
- Murió algún animal? Sí No Causa: _____
e identificación _____
- Colocó algún tipo de vacuna? Sí No
- Si lo realizó, cuál producto? _____ Lote: _____
Que animales _____ Cómo conserva el producto? _____
Dónde lo adquirió? _____ Quién realizó el procedimiento _____
Observaciones _____
- Se realizó cambio de agujas entre animales vacunados? Sí No
- Cómo se deshizo de los viales de las vacunas? _____
- Administró algún tipo de vermífugo? Sí No
- Si lo realizó, cuál producto? _____ Qué animales _____
Observaciones _____

Reproducción

- Se inseminaron animales? Sí No - # e identificación _____



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

INNOVACIÓN, CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTORES DE LECHE EN LA
PROVINCIA DE UBATÉ CUNDINAMARCA

Sanidad mensual

Finca: _____ Código _____ Fecha: _____

16. Se realizó monta natural? Sí No - # E identificación _____
17. Se usó toro repasador: Sí No - # E identificación _____
18. Si el toro es propio, lo alquila a otras fincas? Sí No
19. Se observaron alguno de los siguientes eventos?: Aborto _____ Momificación fetal _____
Maceración fetal _____ Nacimiento de animales muertos _____ Nacimiento de animales débiles _____ Retención de placenta _____
E identificación _____

Sanidad en terneras

20. Enfermedades respiratorias: Sí No - # E identificación _____
21. Diarreas: Sí No - # E identificación _____
22. Onfalitis: Sí No - # E identificación _____
23. Otras enfermedades: Sí No - Cual? _____
E identificación _____
24. Mortalidad: Sí No - # E identificación _____

Sanidad en Vacas

25. Enfermedades respiratorias: Sí No - # E identificación _____
26. Diarrea: Sí No - # E identificación _____
27. Mastitis: Sí No - # E identificación _____
28. Cojers: Sí No - # E identificación _____
29. Otras enfermedades: Sí No - Cual? _____
E identificación _____

Partos y secados

30. Partos: Sí No - # E identificación _____
31. Secados: Sí No - # E identificación _____

B. Anexo: Análisis univariado

HVB-1	Variable	Categoría	Hato expuesto	Hato no expuesto	RR	IC 95%	p
Bioseguridad	Solicitó certificación de libertad de Brucella y tuberculosis	No solícita	83	206			
		Solícita	20	25	0.61	0.37 0.96	0.03
	Realizó cuarentena?	No	91	219			
		Si	12	12	0.5	0.24 0.96	0.03
	Aplicó algún tipo de vacuna?	No	40	58			
		Si	63	173	1.17	1.02 1.33	0.01
	Cuál producto?	Reproductiva/ No vacuna	43	58			
		Aftosa y/o Brucella	60	173	1.21	1.06 1.39	0.002

Reproducción	Se inseminaron animales?	No	55	152					
		Si	48	79	0.77	0.61	0.97	0.03	
	Se usó toro repasador?	No	96	197					
		Si	7	34	1.76	0.99	2.71	0.042	
	Se usó toro prestado?	No	74	130					
		Si	29	101	1.39	1.08	1.76	0,007	
	Trastornos reproductivos	No	46	152					
		Si	57	79	0.67	0.53	0.82	0,00	
	Se presentó endometritis?	No	69	201					
		Si	34	30	0.44	0.3	0.65	0,00	
	Enf. terneras	Enfermedad respiratoria	No	93	226				
			Si	10	5	0.26	0.09	0.68	0.002
Diarrea		No	85	210					
		Si	18	21	0.57	0.33	0.94	0.028	
Onfalitis		No	96	227					
		Si	7	4	0.3	0.09	0.87	0.017	
Enf. Vacas	Diarrea	No	83	203					
		Si	20	28	0.67	0.42	1.04	0.079	
	Mastitis	No	80	203					
		Si	23	28	0.55	0.35	0.83	0.017	

Parámetros	Días abiertos	≤ 175	44	120				
		> 175	59	111	0.86	0.72	1.03	0.12
	Prevalencia de abortos	≤ 2.5	62	174				
		> 2.5	41	57	0.67	0.5	0.88	0.005
	Producción de leche	≤ 50 ltrs	36	151				
		> 50 ltrs	67	80	0.58	0.48	0.71	0,00
Inventario	# de terneras de leche	< 1	33	113				
		≥ 1	70	118	0.79	0.67	0.92	0.004
	# de terneras de levante	< 1	31	95				
		≥ 1	72	136	0.86	0.75	0.99	0.05
	# de novillas de vientre	< 1	24	96				
		≥ 1	79	135	0.8	0.7	0.9	0.001
	# de vacas en el horro	< 1	20	87				
		≥ 1	83	144	0.81	0.72	0.9	0.001
	# de vacas en el ható	≤ 6	31	133				
		> 6	72	98	0.64	0.54	0.75	0,00
	# total de hembras	≤ 8	36	152				
		> 8	77	79	0.58	0.47	0.71	0,00
	# de toros	< 1	80	199				
		≥ 1	23	32	0.67	0.43	1.00 4	0.05

		≤ 11	25	123				
	# total de bovinos	> 11	78	108	0.67	0.57	0.77	0,00
Co-infección	DVB	Hato no expuesto	8	44				
		Hato expuesto	95	187	0.9	0.83	0.96	0.009
	<i>L. hardjo</i>	Hato no expuesto	24	154				
		Hato expuesto	79	77	0.5	0.4	0.59	0,00
DVB	Variable	Categoría	Hato expuesto	Hato no expuesto	RR	IC 95%	p	
Bioseguridad	Aplicó algún tipo de vacuna?	No	76	22				
		Si	206	30	0.82	0.67	1.006	0.025
	Cuál producto?	Reproductiva/ No vacuna	79	22				
Aftosa y/o Brucella		203	30	0.83	0.67	1.02	0.039	
Reproducción	Se realizó montana natural?	No	224	34				
		Si	58	18	1.48	1.06	1.97	0.026
	Se usó sistema mixto?	No	167	36				
		Si	115	16	0.79	0.54	1.12	0.17

	Trastornos reproductivos	No	159	39				
		Si	123	13	0.62	0.4	0.94	0.01
Enf. ternes	Enfermedad respiratoria y diarrea	No	241	48				
		Si	41	4	0.58	0.23	1.3	0.18
Enf. Vacas	Enfermedad respiratoria	No	269	52	1.04	1.02	1.06	0.11
		Si	13	0				
	Diarrea	No	238	48				
		Si	44	4	0.54	0.22	1.23	0.13
Parámetros	Servicios por concepción	≤ 1.4	130	31				
		> 1.4	152	21	0.78	0.58	1.04	0.073
	Servicios en vacas vacías	≤ 1.1	132	33				
		> 1.1	150	19	0.73	0.52	0.99	0.027
Producción de leche	≤ 50 ltrs	142	45					
	> 50 ltrs	140	7	0.23	0.16	0.6	0,00	
Inventario	# de terneras de leche	< 1	115	31				
		≥1	167	21	0.73	0.54	0.96	0.01
	# de terneras de levante	< 1	102	24				
		≥1	180	28	0.87	0.69	1.08	0.17
# de vacas en el horro	< 1	81	26					
	≥1	201	26	0.74	0.58	0.94	0.003	

	# de vacas en el hato	≤ 6	124	40				
		> 6	158	12	0.46	0.29	0.73	0,00
	# total de hembras	≤ 8	147	41				
		> 8	135	11	0.49	0.3	0.79	0,00
	# total de bovinos	≤ 11	113	35				
		> 11	169	17	0.6	0.41	0.84	0,00
Coinfección	L. hardjo	Hato no expuesto	142	36				
		Hato expuesto	140	16	0.67	0.46	0.95	0.01
	HVB-1	Hato no expuesto	187	44				
		Hato expuesto	95	8	0.51	0.28	0.9	0.009
	N. caninum	Hato no expuesto	15	6				
		Hato expuesto	267	46	0.94	0.87	1.03	0.09
	PI	Expuesto	138	18				
		No Expuesto	2	2	3.18	1.03	4.6	0.02

L. hardjio	Variable	Categoría	Hato expuesto	Hato no expuesto	RR	IC 95%	p
Bioseguridad	Solicito certificación de libertad de Brucella y tuberculosis	No solícita	129	160			
		Solícita	27	18	0.64	0.38 1.01	0.05
	Vendió algún animal?	No	48	75			
		Si	108	103	0.86	0.75 0.98	0.03
	Motivo de venta	No vende/cría machos	67	94			
		Necesidad económica/no productivos	89	84	0.86	0.72 1.01	0.07
Reproducción	Se inseminaron animales?	No	91	116			
		Si	65	62	0.86	0.68 1.07	0.19
	Se realizó monta natural?	No	128	130			
		Si	28	48	1.36	0.99 1.81	0.05
		No	101	103			

	Se usó toro prestado?	Si	55	75	1.15	0.92	1.41	0.019
	Trastornos reproductivos	No	80	118				
		Si	76	60	0.73	0.58	0.92	0.005
Enf. terneras	Enfermedad respiratoria	No	146	173				
		Si	10	5	0.49	0.18	1.19	0.11
	Diarrea	No	134	161				
		Si	22	17	0.72	0.42	1.17	0.19
Enf. Vacas	Enfermedad respiratoria	No	153	168				
		Si	3	10	2.11	0.85	3.61	0.082
	Cojeras	No	135	170				
		Si	21	8	0.38	0.18	0.77	0.004
Parámetros	Servicios por concepción	≤ 1.4	66	95				
		> 1.4	90	83	0.84	0.7	0.99	0.04
	Servicios en vacas vacías	≤ 1.1	71	94				
		> 1.1	85	84	0.89	0.74	1.05	0.18
	Días abiertos	≤ 175	70	94				
		> 175	86	84	0.88	0.73	1.04	0.15
	Prevalencia de abortos	≤ 2.5	102	134				
		> 2.5	54	44	0.75	0.56	0.99	0.048

	Producción de leche	≤ 50 ltrs	72	115					
		> 50 ltrs	84	63	0.7	0.56	0.86	0.001	
Inventario	# de terneras de levante	< 1	50	76					
		≥1	106	102	0.87	0.75	0.99	0.04	
	# de novillas de vientre	< 1	47	73					
		≥1	109	105	0.87	0.76	0.99	0.04	
	# de vacas en el horro	< 1	43	64					
		≥1	113	114	0.9	0.8	1.02	0.101	
	# de vacas en el hato	≤ 6	62	102					
		> 6	94	76	0.75	0.62	0.89	0.001	
Coinfección	# total de hembras	≤ 8	75	113					
		> 8	81	65	0.74	0.6	0.91	0.005	
	# de toros	< 1	126	153					
		≥1	30	25	0.77	0.5	1.14	0.2	
	# total de bovinos	≤ 11	56	92					
		> 11	100	86	0.79	0.67	0.92	0.004	
	HVB-1	Hato no expuesto		77	154				
		Hato expuesto		79	24	0.31	0.21	0.45	0,00

DVB	Hato no expuesto	16	36				
	Hato expuesto	140	142	0.9	0.84	0.97	0.012

Bibliografía

- Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113(3–4), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.043>
- Almeida, L., Miranda, I., Hein, H., Neto, W., Costa, E., & Marks, F. (2013). Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from Southern Brazil. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 901–907. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.08.009>
- Anderson, C., Lee, D., & Dean, N. (2014). Identifying clusters in Bayesian disease mapping. *Biostatistics*, 15(3), 457–469. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxu005>
- Bartels, C., Van Maanen, C., Van Der Meulen, A., Dijkstra, T., & Wouda, W. (2005). Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk. *Veterinary Parasitology*, 131(3–4), 235–246. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.011>
- Bartels, C., van Schaik, G., Veldhuisen, J. P., van den Borne, B. H. P., Wouda, W., & Dijkstra, T. (2006). Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum*-associated abortion epidemics. *Preventive Veterinary Medicine*, 77(3–4), 186–198. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.07.003>
- Bedekovic, T., Jemersic, L., Lojkic, I., Lemo, N., & Keros, T. (2012). Bovine viral diarrhoea: Ag ELISA and reverse transcription polymerase chain reaction as diagnostic tools in pooled serum samples from persistently infected cattle - short communication. *Veterinarski Arhiv*, 82(3), 295–301. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/282699419>

- Betancur, H., Gogorza, L., & Martínez, F. (2007). Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en montería (Córdoba, Colombia). *Analecta Veterinaria*. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10915/11204>
- Booth, R. E., & Brownlie, J. (2016). Comparison of bulk milk antibody and youngstock serology screens for determining herd status for Bovine Viral Diarrhoea Virus. *BMC Veterinary Research*, *12*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0797-2>
- Booth, R. E., Cranwell, M. P., & Brownlie, J. (2013). Monitoring the bulk milk antibody response to BVDV: The effects of vaccination and herd infection status. *Veterinary Record*, *172*(17), 449. <https://doi.org/10.1136/vr.101195>
- Buitrago, E., Jiménez, C., & Zambrano, J. (2018). Identificación de factores asociados con la exposición al virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en terneras de hatos lecheros de la sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, (36), 63–73. <https://doi.org/10.19052/mv.5172>
- Cedeño, D., & Benavides, B. (2013). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a *Neospora caninum* en ganado lechero en el municipio de Pasto, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, *18*(1), 3311–3316. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11658>
- Chanlun, A., Emanuelson, U., Chanlun, S., Aiumlamai, S., & Björkman, C. (2006). Application of repeated bulk milk testing for identification of infection dynamics of *Neospora caninum* in Thai dairy herds. *Veterinary Parasitology*, *136*(3–4), 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.025>
- Chanlun, A., Näslund, K., Aiumlamai, S., & Björkman, C. (2002). Use of bulk milk for detection of *Neospora caninum* infection in dairy herds in Thailand. *Veterinary Parasitology*, *110*(1–2), 35–44. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00315-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00315-1)
- Chaparro, G., Olivera, M., Ramírez, N., Villar, D., Fernández, J., Londoño, J., & Palacio, L. (2016). *Neospora caninum* serostatus in dairy cattle of the Northern plains of Antioquia, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, *21*(3), 5577–5583. <https://doi.org/10.21897/rmvz.832>

- Corbellini, L. G., Pescador, C. A., Frantz, F., Wunder, E., Steffen, D., Smith, D. R., & Driemeier, D. (2006). Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *Veterinary Journal*, *172*(1), 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.03.006>
- Corner, A. H., Greig, A. S., & Hill, D. P. (1967). A histological study of the effects of the herpesvirus of infectious bovine rhinotracheitis in the lactating bovine mammary gland. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, *31*(12), 320–330. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4295256>
- Dhaliwal, G. S., Murray, R. D., & Ellis, W. A. (1996). *Leptospira interrogans* serovar hardjo relative to the year of diagnosis. *Veterinary Record*, *138*, 272–277.
- Doherty, E. O., Sayers, R., & Grady, L. O. (2013). Temporal trends in bulk milk antibodies to *Salmonella*, *Neospora caninum*, and *Leptospira interrogans* serovar hardjo in Irish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *109*(3–4), 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.10.002>
- Dubey, J. P., & Schares, G. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*, *140*(1–2), 1–34. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.035>
- Eiras, C., Arnaiz, I., Sanjuán, M. L., Yus, E., & Diéguez, F. J. (2012). Bovine viral diarrhea virus: correlation between herd seroprevalence and bulk tank milk antibody levels using 4 commercial immunoassays. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *24*(3), 549–553. <https://doi.org/10.1177/1040638712440984>
- Fávero, J. F., de Araújo, H. L., Lilenbaum, W., Machado, G., Tonin, A. A., Baldissera, M. D., & Stefani, L. M. (2017). Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. *Microbial Pathogenesis*, *107*, 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.032>
- FEDEGAN. (2015). Cuencas lecheras más importantes en Colombia. Retrieved from <https://www.thinglink.com/scene/670324748017729537>

- Felmer, R., & Miranda, H. (2009). Prevalencia y distribución espacial de brucelosis , leucosis bovina , diarrea viral bovina y rinotraqueítis infecciosa bovina a partir del análisis ELISA de estanques prediales en lecherías de la IX Región , Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 26, 17–26. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2009000100003>
- Filho, P. C., Oliveira, J. M., Andrade, M. R., Silva, J. G., & Kim, P. C. (2017). Incidence and vertical transmission rate of *Neospora caninum* in sheep. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 52, 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.05.006>
- Fonseca, B., Leotti, V. B., Borba, M. R., Silva, G. de S., & Corbellini, L. G. (2017). Can hierarchical modeling improve our understanding of bovine abortion due to *Neospora caninum* infection? *Veterinary Parasitology*, 237, 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.016>
- Gapper, L. W., Copestake, D. E. J., Otter, D. E., & Indyk, H. E. (2007). Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 93–109. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1391-z>
- Garoussi, M. T., Haghparast, A., & Estajee, H. (2008). Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies in bulk tank milk of industrial dairy cattle herds in suburb of Mashhad-Iran. *Preventive Veterinary Medicine*, 84(1–2), 171–176. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.12.016>
- Genç, O., Otlu, S., Şahin, M., Aydın, F., & Gökce, H. I. (2005). Seroprevalence of brucellosis and leptospirosis in aborted dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(2), 359–366. Retrieved from <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/abstract.htm?id=7558>
- Gobernación de Cundinamarca. (2016). Base agropecuaria. Retrieved from <http://www.cundinamarca.gov.co/>
- Gómez, N. (2005). Estudio serológico para la detección de anticuerpos contra *Neospora*

- caninum en hatos lecheros de la Mesa de los Santos del municipio de Piedecuesta , Santander. *Spei Domus*. Retrieved from <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/559/530>
- Gonzalez, M., Arnaiz, I., Eiras, C., Camino, F., Sanjuán, M. L., Yus, E., & Diéguez, F. J. (2014). Monitoring the bulk milk antibody response to bovine viral diarrhoea in dairy herds vaccinated with inactivated vaccines. *Journal of Dairy Science*, *97*(6), 3684–3688. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7851>
- González, M., Astro, J. A., Carro, C., & Mezo, M. (2011). Anti-Neospora caninum antibodies in milk in relation to production losses in dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, *101*(1–2), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.019>
- Gonzalez, M., Rios, R., & Mattar, S. (2007). Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad en bovinos de Montería , Colombia. *MVZ Córdoba*, *12*(2), 1028–1035. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90052-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90052-X)
- Greiser-Wilke, I., Grummer, B., & Moennig, V. (2003). Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. *Biologicals*, *31*(2), 113–118. [https://doi.org/10.1016/S1045-1056\(03\)00025-3](https://doi.org/10.1016/S1045-1056(03)00025-3)
- Grooms, D. L. (2006). Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, *66*(3 SPEC. ISS.), 624–628. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.016>
- Humphry, R. W., Brulisauer, F., McKendrick, I. J., Nettleton, P. F., & Gunn, G. J. (2012). Prevalence of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and associated risk factors in Scottish dairy herds. *Veterinary Record*, *171*(18), 445–445. <https://doi.org/10.1136/vr.100542>
- IBM Statistics. (n.d.). SPSS Statistics. Retrieved from <https://www.ibm.com/analytics/co/es/technology/spss/>
- IGAC. (2018). Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Retrieved from <https://www.igac.gov.co/>

- Krzysztof, R., & Bierowiec, K. (2014). Prevalence of antibodies to *Leptospira hardjo* in bulk tank milk from unvaccinated dairy herds in the south-west region of Poland. <https://doi.org/10.2376/0005-9366-127-10>
- Kupferschmied, H. U., Kihm, U., Miiller, K. H., & Ackermann, M. (1986). Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: a case report. *Theriogenology*, *25*(3), 439–443. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(86\)90052-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(86)90052-X)
- Lanyon, S. R., Hill, F. I., Reichel, M. P., & Brownlie, J. (2014). Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. *Veterinary Journal*, *199*(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.024>
- Leonard, N., Mee, J. F., Snijders, S., Mackie, D., & Elisa, M. (2004). Prevalence of antibodies to *Leptospira interrogans* serovar hardjo in bulk tank milk from unvaccinated Irish dairy herds. *Irish Veterinary Journal*, *57*(4), 226–231. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-57-4-226>
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, *14*(2), 296–326. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001>
- Lewis, F. I., Gunn, G. J., McKendrick, I. J., & Murray, F. M. (2009). Bayesian inference for within-herd prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo using bulk milk antibody testing. *Biostatistics*, *10*(4), 719–728. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxp026>
- Lindberg, A. L. ., & Alenius, S. (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Veterinary Microbiology*, *64*(2–3), 197–222. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00270-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00270-3)
- López, G., Restrepo, B., Restrepo, M., Lotero, M., & Murillo, V. (2007). Estudio para evidenciar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos de la hacienda San Pedro en el municipio de Fredonia. *CES*, *2*(1), 7–20. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428097001%0A>
- Miller, J. (1991). The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Veterinary Medicine*, *86*(1), 95 /98. Retrieved from

- <http://europepmc.org/abstract/AGR/IND91008174>
- Miller, J. M., & van der Maaten, M. J. (1984). Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *American Journal of Veterinary Research*, 45(4), 790–794. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6329043>
- Miyama, T., Watanabe, E., Ogata, Y., Urushiyama, Y., & Kawahara, N. (2018). Herd-level risk factors associated with *Leptospira Hardjo* infection in dairy herds in the southern Tohoku , Japan. *Preventive Veterinary Medicine*, 149, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.11.008>
- Moreno, G., Anastasia, C., & García, J. (2014). Prevalencia de *Neospora caninum* y DVB en una finca con problemas reproductivos en Sopó (Cundinamarca). *Ciencia y Agricultura*, 11, 9–16. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5039256>
- Motta, J., Clavijo, J., García, I., & Abeledo, M. (2014). Prevalencia de anticuerpos a *Brucella abortus* , *Leptospira sp .* y *Neospora caninum* en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá , Colombia. *Revista de Salud Animal*, 36(2), 80–89. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000200002
- Motta, J., Waltero, I., García, I., Antonia, M., Abeledo, I., & Fernández, O. (2012). Estudio retrospectivo de agentes infecciosos que afectan la reproducción bovina en el Departamento del Caquetá , Colombia. *Revista de Salud Animal*, 34(3), 159–164. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2012000300004
- Motta, J., Waltero, I., García, I., Antonia, M., Abeledo, I., & Fernández, O. (2013). Prevalencia de anticuerpos al virus de la diarrea viral bovina , Herpesvirus bovino 1 y Herpesvirus bovino 4 en bovinos y búfalos en el Departamento de Caquetá , Colombia. *Revista de Salud Animal*, 35(3), 174–181. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000300005
- Murphy, J. M., & Hanson, J. J. (1965). Infection of the bovine udder with coliform bacteria.

Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science, 29, 61-77.

- Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., & Chauhan, R. S. (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10(1), 85–98. <https://doi.org/10.1017/S1466252309990028>
- Nardelli, S., Farina, G., Lucchini, R., Valorz, C., Moresco, A., Dal Zotto, R., & Costanzi, C. (2008). Dynamics of infection and immunity in a dairy cattle population undergoing an eradication programme for Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). *Preventive Veterinary Medicine*, 85(1–2), 68–80. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.01.001>
- Nicolino, R. R., Fonseca, C. S., Lopes, L. B., Rodrigues, R. O., & Haddad, J. P. A. (2017). Prevalence and risk factors associated with anti-Neospora caninum antibodies in dairy herds in the central region of Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 10(January), 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.08.008>
- Nylin, B., Strüger, U., & Rønsholt, L. (2000). A retrospective evaluation of a Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 47, 91–105. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00163-X](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00163-X)
- O' Doherty, E., Sayers, R., & O' Grady, L. (2013). Temporal trends in bulk milk antibodies to Salmonella, Neospora caninum, and Leptospira interrogans serovar hardjo in Irish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 109(3–4), 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.10.002>
- Ochoa, J., & Sánchez, A. (2000). Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Panamericana de Salud Pública*, 7(5), 325–331. Retrieved from http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892000000500006&lng=pt&nrm=iso
- Ochoa, X., Orbegozo, M., Manrique-Abril, F., Martín Pulido, M., & Ospina, J. (2012). Seroprevalencia de rinotraqueitis infecciosa bovina en hatos lecheros de Toca –

- Boyacá. *Revista MVZ Córdoba*, 17(2), 2974–2982. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3991840>
- Orjuela, J., Navarrete, M., Betancourt, A., Roqueme, L., & Cortez, E. (1991). Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia. *FAO.Org*. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/u5700t/u5700T07.htm>
- Orlando, M., Medellín, P., María, A., Anaya, D., & José, D. (2013). Determinación de anticuerpos anti *Neospora caninum* en vacas de la provincia de Sugamuxi , Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 4(4). Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242013000400007
- Ottea, M. J., Ravenborgb, T., & Hiittnerb, K. (1995). A pilot study of elevated abortion and stillbirth ratios in cattle in the foothills of the Eastern plains of Colombia. *Preventive Veterinary Medicine*, 22(94), 103–113. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(94\)00394-X](https://doi.org/10.1016/0167-5877(94)00394-X)
- Oviedo, S., Betancur, C., Mestra, A., & González, M. (2007). Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería. *Revista MVZ Córdoba*, 12(1), 929–933. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-02682007000100008
- Parra, J., Vera, V., Villamil, L., & Ramírez, G. (1994). Seroepidemiología de la diarrea viral bovina en explotaciones lecheras de la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 29–44. <https://doi.org/10.15446/rfmvz>
- Parsonson, I. M., & Snowdon, W. A. (1975). The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with, or semen contaminated with, infectious Bovine rhinotracheitis virus. *Australian Veterinary Journal*, 51(8), 365–369. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1975.tb15595.x>
- Prescott, J. F., Miller, R. B., Nicholson, V. M., Martin, S. W., & Lesnick, T. (1988).

Seroprevalence and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 52(2), 210–215.

Pritchard, G. (2001). Milk antibody testing in cattle. *In Practice*, 23(9), 542–549. <https://doi.org/10.1136/inpract.23.9.542>

Pritchard, G. (2006). Bulk milk antibody testing: Where are we now? *Cattle Practice*, 14(3), 175–179.

Pulido, M. O., García, D. J., & Vargas, J. C. (2016). Seroprevalencia de Neospora caninum en un Hato Lechero de Boyacá , Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(2), 355–362. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11658> Seroprevalencia

QGIS Get Interactive. (2018). QGIS Desktop - OSGeo. Retrieved from <https://www.osgeo.org/projects/qgis/>

Quevedo, D., Benavides, B., Cárdenas, G., & Herrera, C. (2011). Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto , Colombia , in 2011. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(2), 61–68. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1794-44492011000200007

Raaperi, K., Orro, T., & Viltrop, A. (2014). Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *Veterinary Journal*, 201(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.040>

Rivera, H., Va, I., & Sta, K. (2002). Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Preventive Veterinary Medicine*, 56, 193–202. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(02\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(02)00161-7)

Rubiano, O., & Murcia, J. (2015). *Neosporosis bovina como causa de falla reproductiva en hatos del cordón lechero de Ubaté y Chiquinquirá*. La Salle. Retrieved from http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18595/14111111_2015.pdf?sequence=1

- Ruiz, J., Jaime, J., & Vera, V. (2010). Prevalencia serológica y aislamiento del Herpesvirus Bovino-1 (BHV-1) en hatos ganaderos de Antioquia y del Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Retrieved from <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/425/556>
- Sanhueza, J. M., Heuer, C., & West, D. (2013). Contribution of *Leptospira*, *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(1–2), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.009>
- SaTScan. (2005). Software for the spatial, temporal, and space-time scan statistics. Retrieved from <https://www.satscan.org/>
- Sayers, R. G. (2017). Associations between exposure to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and milk production, reproductive performance, and mortality in Irish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1340–1352. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11113>
- Sayers, R. G., Byrne, N., O'Doherty, E., & Arkins, S. (2015). Prevalence of exposure to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) in Irish dairy herds. *Research in Veterinary Science*, 100, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.02.011>
- Sayers, R. G., Sayers, G. P., Graham, D. A., & Arkins, S. (2015). Impact of three inactivated bovine viral diarrhoea virus vaccines on bulk milk p80 (NS3) ELISA test results in dairy herds. *Veterinary Journal*, 205(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.03.025>
- Schares, G., Bärwald, A., Staubach, C., Wurm, R., Rauser, M., Conraths, F. J., & Schroeder, C. (2004). Adaptation of a commercial ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk. *Veterinary Parasitology*, 120(1–2), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.11.016>
- Solorio, J. (2004). *Análisis de riesgo de enfermedades abortivas en el sistema de lechería familiar en la región centro del estado de Michoacán*. Universidad Autónoma de

Yucatán. México.

- Straub, O. C. (1990). *Virus Infections of Ruminants*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-87312-5.50020-5>
- Tabatabaeizadeh, E., Tabar, G. H., Farzaneh, N., & Seifi, H. A. (2011). Prevalence of *Leptospira hardjo* antibody in bulk tank milk in some dairy herds in Mashhad suburb. *Academic Journals*, 5(14), 1768–1772. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.764>
- Thrusfield, M. (1991). *Veterinary epidemiology*. Blackwell Science (Vol. 39). [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00107-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00107-7)
- Thurmond, M. C., & Hietala, S. K. (1996). Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, 57(11), 1559–1562. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8915429>
- Tiwari, A., VanLeeuwen, J. A., Dohoo, I. R., Stryhn, H., Keefe, G. P., & Haddad, J. P. (2005). Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. *Veterinary Microbiology*, 109(3–4), 147–158. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2005.05.011>
- Toftaker, I., Sanchez, J., Stokstad, M., & Nødtvedt, A. (2016). Bovine respiratory syncytial virus and bovine coronavirus antibodies in bulk tank milk – risk factors and spatial analysis. *Preventive Veterinary Medicine*, 133, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.09.003>
- Van Wuijckhuise, L., Bosch, J., Franken, P., Frankena, K., & Elbers, A. R. W. (1998). Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds. *Veterinary Record*, 142, 181–184. <https://doi.org/10.1136/vr.142.8.181>
- Vargas, A., Vargas, J., Vásquez, M., Góngora, A., & Mogollón-waltero, E. (2018). Serological status of IBR , BVD , leucosis , *Leptospira* and *Neospora caninum* in bovine females of the department of Santander , Colombia, 23(2), 6671–6680. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1341>

- Vargas, D. S., Jaime, J., & Vera, V. J. (2009). Perspectives to control Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(4), 677–688. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902009000400011&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Velasova, M., Damaso, A., Prakashbabu, B. C., Gibbons, J., Wheelhouse, N., & Longbottom, D. (2017). Herd-level prevalence of selected endemic infectious diseases of dairy cows in Great Britain. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 9215–9233. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11863>
- Wapenaar, W., Barkema, H. W., O'Handley, R. M., & Bartels, C. J. M. (2007). Use of an enzyme-linked immunosorbent assay in bulk milk to estimate the prevalence of *Neospora caninum* on dairy farms in Prince Edward Island, Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 48(5), 493–499.
- Wellenberg, G. J., Van Der Poel, W. H. M., & Van Oirschot, J. T. (2002). Viral infections and bovine mastitis: A review. *Veterinary Microbiology*, 88(1), 27–45. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00098-6)
- Wellenberg, G. J., Verstraten, E. R. A. M., Mars, M. H., & Oirschot, J. T. V. A. N. (1998). Detection of Bovine Herpesvirus 1 Glycoprotein E Antibodies in Individual Milk Samples by Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, 36(2), 409–413.
- Wilson, D. J., Orsel, K., Waddington, J., Rajeev, M., Sweeny, A. R., Joseph, T., ... Raverty, S. A. (2016). *Neospora caninum* is the leading cause of bovine fetal loss in British Columbia, Canada. *Veterinary Parasitology*, 218, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.006>
- Zambrano, J., Cotrino, V., & Jiménez, C. (2001). Evaluación serológica de *Neospora caninum* en bovinos, veterinaria. *Acovez*, 26(1). Retrieved from <https://encolombia.com/veterinaria/publi/acovez/ac261/acovez26101evaluacion/>
- Zuluana, A. (2005). Factores de riesgo asociados a leptospirosis en hatos bovinos de Pereira, 2002-2005. *Investigaciones Andina*, 11(19), 108–117.