

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS BIOLÓGICAS Y QUÍMICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“Determinación de los niveles β -hidroxibutirato en sangre como método de diagnóstico de Cetosis Bovina en vacas lecheras de alta producción, Arequipa 2015”

"Determination of β -hydroxybutyrate levels in blood as a diagnostic method Bovina ketosis in dairy cows of high production, Arequipa 2015"

Borrador de Tesis presentado por el Bachiller:

JORGE GONZALO CALLO FLORES

Para optar el Título Profesional de

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AREQUIPA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Mi madre Martina Flores y mi padre German Callo, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaron. Todo esto se los debo a ustedes.

Mi hermana, Elizabeth Callo, por estar conmigo y apoyarme siempre, la quiero mucho.

Mis sobrinos, Ismael, Ana y German, para que vean en mí un ejemplo a seguir.

Todos mis amigos, Wilbert, Marco, Salvador, Lorenzo, Jaime, Víctor, Junior, André, Gustavo, Jean Pierre, Oscar, Jimmy, Romel, Delvis, Mario, Ángel, Jack, Danny, Jessica, Mariella, Maritza, Rosario, Mirian, Katherine, Katia, Guiomar y dos amigos que se me adelantaron; Ronald (QEPD) y Shamir (QEPD), por compartir los buenos y malos momentos.

Todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto. Ustedes saben quiénes son.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Católica de Santa María por la excelente formación profesional y a mis maestros que influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que se me presentan en la vida profesional.

A mi asesor de tesis Mgter. MVZ Jorge Luis Zegarra Paredes, al cual considero una gran persona y amigo, por haberme dado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, de igual modo al tiempo que me dedico para orientarme, por su gran ayuda que me brindo al momento de realizar la tesis.

A mis jurados; Dr. Ovidio Velasco Velásquez, Mg. Guillermo Vásquez Rodríguez y Mg. Eloísa Zúñiga Valencia, por su tiempo y guía como jurados de este trabajo de tesis.

Al Dr. Erick Díaz, por haberme dado todas las facilidades en el Establo Los Rosales de agrícola Pampa Baja, al momento de ejecutar la tesis.

Al gran equipo de campo, que me ayudo a la realización de la toma de muestras, a quienes admiro y respeto.

Y a todas las personas que me brindaron un trabajo e hicieron que logre alcanzar este objetivo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Págs.
I. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. ENUNCIADO DEL PROBLEMA.	11
1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.	11
1.3. JUSTIFICACIÓN.	11
1.3.1. Aspecto general.	11
1.3.2. Aspecto Tecnológico.	12
1.3.3. Aspecto social.	12
1.3.4. Aspecto económico.	12
1.3.5. Importancia del trabajo.	12
1.4. ANÁLISIS DE CONTENIDOS.	13
1.5. OBJETIVOS.....	13
1.5.1. Objetivo general.	13
1.5.2. Objetivos específicos.	13
1.6. HIPÓTESIS.....	13
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO.	14
2.1.1. Alimentación en rumiantes.....	14
2.1.2. Metabolismo de los carbohidratos en vacas lecheras.	15
2.1.3. Cetosis	19
2.1.3.1.1 Metabolismo de la glucosa en rumiantes	21
2.1.3.1.2 Formación de cetonas	22
2.1.3.1.3 Insuficiencia hepática en la cetosis	22
2.1.3.1.4 Papel de la insulina y el glucagón	23
2.1.3.1.5 Equilibrio energético	23
2.1.3.2.1 Cetosis subclínica	25
2.1.3.2.2 Variación de vacas individuales	25

2.1.3.2.3	Tipos de cetosis bovina.....	26
2.1.3.3.1	Presentación.....	29
2.1.3.3.2	Factores de riesgo animal y de manejo.....	29
2.1.3.3.3	Significado económico	30
2.1.3.5.1	Cetosis clínica:.....	32
2.1.3.5.2	Cetosis subclínica:.....	34
2.1.3.7.1	Glucosa En Sangre.....	36
2.1.3.7.2	Cetona en sangre	36
2.1.3.7.3	Cetonas en Orina.....	37
2.1.3.7.4	Cetona en La Leche.....	37
2.1.4.	Beta-hidroxibutirato.....	38
2.2.	ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.....	41
2.2.1.	Análisis de tesis.....	41
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
3.1.	MATERIALES	48
3.1.1.	Localización del trabajo	48
3.1.2.	Materiales biológicos.....	48
3.1.3.	Materiales de laboratorio	48
3.1.4.	Materiales de campo	48
3.1.5.	Equipos y maquinaria	49
3.1.6.	Otros materiales	49
3.2.	MÉTODOS.....	49
3.2.1.	Muestreo	49
3.2.2.	Métodos de evaluación.....	50
3.3.	VARIABLES DE RESPUESTA.....	54
3.3.1.	Variables independientes.....	54
3.3.2.	Variables dependientes	54
3.4.	EVALUACIÓN ESTADÍSTICA.....	54
3.4.1.	Diseño experimental	54

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	56
4.1. Validación por fotolorimetría de la técnica de determinación de β -hidroxibutirato (BHBA) en muestras de suero sanguíneo.	56
4.2. Evaluación de los niveles de β -hidroxibutirato en vacas lecheras post parto de alta producción	57
4.2.1. Comparación de los niveles de β -hidroxibutirato según número de parto y días en lactación	57
4.3. Determinar la prevalencia de cetosis clínica y subclínica según los niveles de β -hidroxibutirato encontrados en vacas lecheras post parto de alta producción	60
4.4. Determinación de la eficacia de la técnica de medición de β -hidroxibutirato en sangre para el diagnóstico de cetosis bovina.	62
V. CONCLUSIONES.....	64
VI. RECOMENDACIONES	65
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	66
ANEXO.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1.	Prueba de validación del kit de D-3 hidroxibutirato (Ranbut) mmol/L	56
Cuadro N° 2.	Comparación de los niveles de β -hidroxibutirato (mmol/L) según número de parto y días en lactación.....	57
Cuadro N° 3.	Prevalencia general de cetosis	60
Cuadro N° 4.	Prevalencia de cetosis clínica y subclínica.....	61
Cuadro N° 5.	Comparación de los niveles de producción de leche (lts/v/día) según número de parto y días en lactación	63



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1. Eficacia de la técnica de β -hidroxibutirato en sangre para detectar casos de cetosis clínica, subclínica y balance energético negativo.....	62
--	----



RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar los niveles β -hidroxibutirato, en vacas lecheras Holstein de alta producción entre 0 y 45 días post parto, dividiéndolos en dos categorías, primíparas y multíparas de acuerdo a su etapa de lactación, en el primer y segundo grupo comprenden vacas en subgrupos; entre 0 a 15 dpp, el segundo entre 16 a 30 dpp y el tercero entre 31 a 45 dpp. Utilizando el método Ranbut en el Establo los Rosales de Agrícola Pampa Baja de la irrigación de Majes. Se utilizaron 10 vacas por cada subgrupo, las cuales fueron muestreadas, se les tomaron muestras de sangre de la vena caudal, para luego ser colocadas con el reactivo Ranbut y mediante fotocolorimetría, se realizó finalmente su lectura. Los resultados de los niveles de B-Hidroxibutirato en sangre se evaluaron según los siguientes parámetros: Cetosis Clínica (2.9 mmol/L), Cetosis Subclínica (1.2 – 2.9 mmol/L) y Normal (< 1.2 mmol/L). Se encontraron niveles de B-Hidroxibutirato para el primer grupo Primíparas; de 0.324 mmol/L (0-15 dpp), 0.330 mmol/L (16 - 30 dpp), 0.289 mmol/L (31 – 45 dpp) y para el segundo grupo Multíparas; de 0.265 mmol/L (0-15 dpp), 0.360 mmol/L (16 - 30 dpp), 0.408 mmol/L (31 – 45 dpp). Luego de ser evaluadas las muestras se observó si hay relación entre el número de partos y los días de lactación, para lo cual se utilizó una prueba de t , la cual nos indicó que no existe una relación significativa, tanto para el número de partos como para los días en lactación. En tanto si hablamos del total de las muestras tomadas para el total de los grupos, la Cetosis Subclínica representa el 5%. No se encontró asociación estadística ($p > 0.05$) entre los días post parto (estado de lactación), y la ausencia o presencia de la enfermedad, al evaluar los niveles según el número de partos tampoco se encontró asociación estadística ($p < 0.05$) entre los números de partos y la presencia o no de cetosis (clínica o subclínica).

SUMMARY

This research aimed to determine the β -hydroxybutyrate, Holstein dairy cows levels high production between 0 and 45 days postpartum, dividing them into two categories, primiparous and multiparous according to their stage of lactation, in the first and second group include cows into subgroups; dpp between 0-15, the second between 16 to 30 dpp and the third between 31-45 dpp. Ranbut using the method in the Rosales Stable Agricultural Pampa Baja of Majes. 10 cows for each subgroup, which were sampled were used, they took blood samples from the tail vein, before being placed with the reagent and by photolorimetry Ranbut, reading was finally realized. The results of the B-hydroxybutyrate levels in blood were evaluated by the following parameters: clinical ketosis (2.9 mmol / L), Subclinical ketosis (1.2 - 2.9 mmol / L) and Normal (<1.2 mmol / L). B-hydroxybutyrate levels for the first group met Casting; of 0.324 mmol / L (0-15 dpp), 0.330 mmol / L (16-30 dpp), 0.289 mmol / L (31-45 dpp) and for the second Multiparous group; of 0.265 mmol / L (0-15 dpp), 0.360 mmol / L (16-30 dpp), 0.408 mmol / L (31-45 dpp). After being evaluated the samples was observed if there is a relationship between the number of births and days of lactation, for which a t test was used, which told us that there is no significant relationship for both parity as for days in milk. As if we speak of all samples taken for the total group, subclinical ketosis represents 5%. No statistical association ($p > 0.05$) was found between postpartum (lactating) days, and the absence or presence of the disease, to assess levels according to the number of births is no statistical association ($p < 0.05$) was found between the number of births and the presence or absence of ketosis (clinical or subclinical).

I. INTRODUCCIÓN

1.1. ENUNCIADO DEL PROBLEMA.

“Determinación de los niveles β -hidroxibutirato en sangre como método de diagnóstico de Cetosis Bovina en vacas lecheras de alta producción”.

1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.

La cetosis es una de las enfermedades metabólicas de gran importancia en los hatos lecheros, debido a una mala alimentación del animal, la cual afecta su salud generando un impacto negativo debido al costo del tratamiento, baja en la producción de leche y mayor incidencia de enfermedades y problemas reproductivos.

1.3. JUSTIFICACIÓN.

El diagnóstico de cetosis mediante la determinación de β -hidroxibutirato en sangre, va permitir tener un mayor control y prevención de esta enfermedad, contribuyendo en el aumento de la producción láctea y aumento de los ingresos económicos del estable.

1.3.1. Aspecto general.

La preocupación por la disminución de la producción de leche en la zona donde se realizará este estudio hace referir a la cetosis como uno de los principales problemas que afecta directamente sobre esta, y de cierta manera se hace necesario la obtención de un medio clínico capaz de hacer frente a este, que nos permita su diagnóstico temprano y con ello tratar este problema en forma oportuna y evitando que la cetosis pueda provocar daños que sean difíciles de resarcir.

1.3.2. Aspecto Tecnológico.

Cada vez aumenta el número de alternativas referidas al diagnóstico de cetosis, la tecnología avanza a tal punto que se hace más fácil la adquisición de ellas por parte de los productores lecheros, ayudándolos de manera muy significativa en la detección y tratamiento temprano de esta enfermedad. El uso de un kit de diagnóstico en sangre basado en fotocolorimetría para uso en laboratorio constituye un avance tecnológico en el diagnóstico de esta enfermedad metabólica en nuestro país.

1.3.3. Aspecto social.

Debemos considerar en este punto que la producción de la leche en la cuenca del sur es la principal actividad socio – económica y pecuaria, y por tal motivo radica su importancia en obtener el mejor producto ya que este será destinado hacia consumidores que somos la población.

1.3.4. Aspecto económico.

Si la cetosis se detecta de manera oportuna y se trata de igual forma, va generar que este problema disminuya, redundando directamente en una mayor producción y menor alteración del proceso reproductivo, lo que a su vez genera menores pérdidas y mayores ingresos para los productores.

1.3.5. Importancia del trabajo.

Este trabajo es hecho con la única finalidad de validar un método nuevo de diagnóstico para la detección a tiempo de cetosis y con ello mejorar su productividad, al ser un método rápido, sencillo y eficaz.

1.4. ANÁLISIS DE CONTENIDOS.

Este trabajo es hecho con la única finalidad de validar un método nuevo de diagnóstico para la detección a tiempo de cetosis y con ello mejorar su productividad, al ser un método rápido, sencillo y eficaz.

1.5. OBJETIVOS.

1.5.1. Objetivo general.

- Determinar los niveles β -hidroxibutirato en sangre como método de diagnóstico de Cetosis Bovina en vacas lecheras de alta producción.

1.5.2. Objetivos específicos.

- Validar por fotolorimetría la técnica de determinación de β -hidroxibutirato en muestras de suero sanguíneo.
- Evaluar los niveles de β -hidroxibutirato en vacas lecheras post parto de alta producción
- Determinar la prevalencia de cetosis clínica y subclínica según los niveles de β -hidroxibutirato encontrados en vacas lecheras post parto de alta producción.
- Determinar la eficacia de la técnica de medición de β -hidroxibutirato en sangre para el diagnóstico de cetosis bovina.

1.6. HIPÓTESIS.

Dado que el β -hidroxibutirato es el cuerpo cetónico de mayor importancia a nivel sanguíneo en casos de cetosis bovina, su cuantificación en muestras de sangre, mediante el fotolorimétrico, ayude a determinar los casos clínicos y subclínicos de esta enfermedad metabólica.

II. MARCO TEÓRICO.

2.1. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO.

2.1.1. Alimentación en rumiantes

Principios de anatomía y fisiología digestiva de los rumiantes.

2.1.1.1. Rumia

- La rumia reduce el tamaño de las partículas de la fibra y expone los azúcares y otros principios a la fermentación microbiana.
- Producción de 160-180 litros de saliva cuando una vaca mastica 6-8 horas por día, pero menos de 30-50 litros si el rumen no es estimulado (poco forraje o demasiado concentrado en la dieta).
- Los amortiguadores en la saliva (bicarbonato y fosfato) neutralizan los ácidos producidos por fermentación microbiana, manteniendo un pH neutral (6.8) que favorece la digestión de fibra y crecimiento de microbios en el rumen.

2.1.1.2. Retículo-rumen (fermentación)

- Retención de partículas largas de forrajes estimulan la rumia.
- La fermentación microbiana produce: (1) ácidos grasos volátiles (AGV) como producto final de la fermentación de la celulosa y hemicelulosa y otros azúcares y (2) una masa de microbios con alta calidad de proteína.
- Absorción de AGV a través de la pared del rumen. Los AGV son utilizados como la fuente principal de energía para la vaca y como precursores de la grasa de la leche (triglicéridos) y azúcares en la leche (lactosa).
- Producción de hasta 1000 litros de gases cada día que son eructados.

2.1.1.3. Omaso (reciclaje de algunos nutrientes)

- Absorción de agua, sodio, fosforo y AGV residuales.

2.1.1.4. Abomaso (digestión ácido)

- Secreción de ácidos fuertes y enzimas digestivas.
- Digestión de alimentos no fermentados en el rumen (algunas proteínas y lípidos, generalmente recubiertos o sometidos a tratamiento térmico con esta finalidad).
- Digestión de proteínas bacterianas producidas en el rumen (0.5 a 2.5 kg por día).

2.1.1.5. Intestino delgado (digestión y absorción)

- Secreción de enzimas digestivas por el intestino delgado, hígado y páncreas.
- Digestión enzimática de carbohidratos, proteínas y lípidos.
- Absorción de agua, minerales y productos de digestión: glucosa, aminoácidos y ácidos grasos.

2.1.1.6. Ciego (fermentación) e Intestino grueso

- Una población pequeña de microbios fermentan los productos de la digestión no absorbidos.
- Absorción de agua y formación de heces. (Delgado, Muroya y Olivos, 2012).

2.1.2. Metabolismo de los carbohidratos en vacas lecheras.

2.1.2.1. Clases de carbohidratos

Los carbohidratos son la fuente más importante de energía y de los principales precursores de grasa y azúcar (lactosa) en la leche de la vaca. Los microorganismos en el rumen permiten a la vaca obtener energía de los carbohidratos fibrosos (celulosa y hemicelulosa) que son ligados a la lignina en las paredes de las

células de plantas. La fibra es voluminosa y se retiene en el rumen donde la celulosa y la hemicelulosa fermenten lentamente. Mientras que madura la planta, el contenido de lignina de la fibra incrementa y el grado de fermentación de celulosa y hemicelulosa en el rumen se reduce. La presencia de fibra en partículas largas es necesaria para estimular la rumia. La rumia aumenta la separación y fermentación de fibra, estimula las contracciones del rumen y aumenta el flujo de saliva hacia el rumen. (Howard, 2006a)

La saliva contiene bicarbonato de sodio y fosfatos que ayudan a mantener la acidez (pH) del contenido del rumen en un pH casi neutral. Raciones que faltan fibra suficiente resultan en un porcentaje bajo de grasa en la leche y contribuyen a desordenes de digestión, tales como desplazamiento del abomaso y acidosis del rumen. Los carbohidratos no-fibrosos (almidones y azúcares) fermentan rápidamente y completamente en el rumen. (García y Gingins, 1969a)

El contenido de carbohidratos no-fibrosos incrementa la densidad de energía en la dieta, y así mejora el suministro de energía y determina la cantidad de proteína bacteriana producida en el rumen. Sin embargo, los carbohidratos no-fibrosos no estimulen la rumia o la producción de saliva y cuando se encuentran en exceso pueden inhibir la fermentación de fibra. Así, el equilibrio entre carbohidratos fibrosos y no-fibrosos es importante en alimentar las vacas lecheras para la producción eficiente de leche. En la vaca lactante, el rumen, el hígado y la glándula mamaria son los principales órganos involucrados en el metabolismo de carbohidratos. (García y Gingins, 1969b)

2.1.2.2. Producción de ácidos grasos volátiles en el rumen

Durante la fermentación ruminal, la población de microorganismos, principalmente bacteria, fermenta los

carbohidratos para producir energía, gases (metano - CH₄ y bióxido de carbón - CO₂), calor y ácidos. (García y Gingins, 1969c)

El ácido acético (vinagre), ácido propiónico y ácido butírico son ácidos grasos volátiles (AGV) y conforman la mayoría (>95%) de los ácidos producidos en el rumen. También la fermentación de aminoácidos generados en el rumen produce ácidos, llamados isoácidos. La energía y los isoácidos producidos durante la fermentación son utilizados por las bacterias para crecer (es decir principalmente para sintetizar proteína). El CO₂ y CH₄ son eructados, y la energía todavía presente en el CH₄ se pierde. Si no es necesario para el mantenimiento de la temperatura del cuerpo, el calor producido durante la fermentación se disipa. (García y Gingins, 1969d).

Los AGV son productos finales de la fermentación microbiana y son absorbidos a través de la pared del rumen. La mayoría del acetato y todo el propionato son transportados al hígado, pero la mayoría del butirato se convierte en la pared del rumen a una cetona que se llama beta-hidroxibutirato. Las cetonas son la fuente principal de energía (combustible) para la mayoría de los tejidos del cuerpo. Las cetonas provienen principalmente del butirato producido en el rumen, pero en las etapas iniciales de lactancia vienen también de la movilización de tejidos adiposos. (García y Gingins, 1969e)

2.1.2.3. Síntesis de lactosa y grasa en el hígado

Durante la lactancia, la glándula mamaria tiene una alta prioridad para la utilización de glucosa. La glucosa se utiliza principalmente para la formación de lactosa (azúcar en la leche). La cantidad de lactosa sintetizada en la ubre es estrechamente ligada con la cantidad de leche producida cada día. La concentración de lactosa en la leche es relativamente constante y básicamente, agua se agrega a la cantidad de lactosa producida por las células

secretorias hasta lograr una concentración de lactosa de aproximadamente 4.5%. Así, la producción de leche en las vacas lecheras es altamente influida por la cantidad de glucosa derivada del propionato producido en el rumen. También, glucosa se convierte a glicerol que se utiliza para la síntesis de grasa de leche. (Howard, 2006b).

El Acetato y β -hidroxibutirato se utilizan para la formación de ácidos grasos encontrados en la grasa de leche. La glándula mamaria sintetiza ácidos grasos saturados que contienen de 4 a 16 átomos de carbón (ácidos grasos de cadena corta). Casi la mitad de grasa de la leche es sintetizada en la glándula mamaria. La otra mitad que es rica en ácidos grasos no-saturados que contienen de 16 a 22 átomos de carbón (ácidos grasos de cadena larga) provenientes de los lípidos en la dieta. (Armentano, 1994a)

La energía requerida para la síntesis de grasa y lactosa viene de la combustión de cetonas, pero el acetato y la glucosa también pueden ser utilizados como fuentes de combustible para las células de muchos tejidos. (Armentano, 1994b)

2.1.2.4. Efecto de la dieta sobre la fermentación ruminal y el rendimiento de leche.

La fuente de carbohidrato en la dieta influye en la cantidad y la relación de AGV producidos en el rumen. La población de microbios convierte los carbohidratos fermentados a aproximadamente 65% ácido acético, 20% ácido propiónico y 15% ácido butírico cuando la ración contiene una alta proporción de forrajes. En este caso, el suministro de acetato puede ser adecuado para maximizar la producción de leche, pero la cantidad de propionato producido en el rumen puede limitar la cantidad de leche producida porque el suministro de glucosa es limitado. Los carbohidratos no-fibrosos presentes en muchos concentrados promueven la producción de ácido propiónico mientras los

carbohidratos fibrosos que se encuentran principalmente en forrajes estimulen la producción de ácido acético en el rumen. Además, los carbohidratos no fibrosos rinden más AGV (es decir más energía) porque son fermentados más rápidamente y más completamente. (Armentano, 1994c).

2.1.3. Cetosis

La cetosis es un trastorno metabólico que se produce en el ganado lechero, cuando la demanda por energía es superior a la ingesta de energía, dando lugar a un balance energético negativo. Esto ocurre más comúnmente en vacas con ingesta reducida o vacas recién paridas de alto nivel de producción. Las vacas que suelen tener hipoglucemia (baja concentración de azúcar en la sangre) utilizan una gran cantidad de grasa corporal como fuente de energía para apoyar la producción de leche, generando una alta producción de cuerpos cetónicos que no pueden ser metabolizados por la vaca, estos cuerpos cetónicos aumentan su concentración en todos los fluidos corporales y el resultado es la presentación del cuadro clínico o subclínico de cetosis, siendo el BHBA el cuerpo cetónico mas predominante en este estado. (Guthrie y Jordan, 1972)

Todas las vacas lecheras en lactación temprana (primeras 6 semanas después del parto) corren el riesgo de cetosis. La incidencia en la lactación se estima en 16.5%, pero esto varía considerablemente en hatos individuales. La cetosis se produce en todos los partos (aunque parece ser menos común en las primíparas) y no parece tener una predisposición genética, además de estar asociadas a las razas lecheras. Las vacas con excesivo tejido adiposo (condición corporal $\geq 3,75$ en una escala del 1 al 5) en el parto tienen un mayor riesgo de cetosis, en comparación con aquellas que tienen baja condición corporal. Las vacas lactantes con hipercetonemia tienen un mayor riesgo de

desarrollar cetosis clínica, en comparación con las vacas con menores concentraciones séricas de BHBA. La cetosis subclínica (BHBA > 1400 μ mol/L en sangre) en la primera o segunda semana después del parto se asocia con: 3 a 8 veces más de riesgo de desplazamiento de abomaso izquierdo; 3 veces mayor riesgo de metritis; 4 a 6 veces más de riesgo de cetosis clínica (Duffield, Lissemore, McBride, Leslie, 2009a); mayor probabilidad de endometritis subclínica en la cuarta semana después del parto (Hammon, Evjen, Dhiman, Goff, Walters, 2006.); y aumento de la duración y severidad de la mastitis (Suriyasathaporn, Heuer, Noordhuizen-Stassen, 2000). Las vacas con BHBA > 1800 μ mol/L en suero durante la primera semana tenían una producción de 300 kg más bajo de lo proyectado para la totalidad de la lactancia (Duffield et al, 2009b).

La cetosis causa grandes pérdidas económicas debido a la disminución de la producción de leche, alteración de la fertilidad y el aumento de riesgo de desplazamiento de abomaso (Geishauser, Leslie, Kelton, Duffield, 2001a). Cuando hay un aumento de cuerpos cetónicos en el animal, sin producir signos, hablamos de cetosis subclínica. Consecuentemente, 1400 μ mol de β -OHB/L de sangre (Duffield et al, 2009c), 100 μ mol de acetoaceto/L de leche, 100 μ mol de BHBA/L de leche o 250 μ mol de acetona / L de leche, se pueden utilizar como puntos de corte para distinguir entre las vacas con o sin cetosis subclínica. (Geishauser et al, 2001b)

Durante una evaluación metabólica, la literatura señala que el biomarcador de elección es el BHBA, ya que es el cuerpo cetónico que presenta mayores ventajas analíticas. Los tres cuerpos cetónicos principales están presentes en la sangre, leche y orina y se pueden medir, por lo que, comúnmente, no son utilizados para evaluar la cetosis. El BHBA es el cuerpo cetónico predominante en la sangre, donde es estable. (LeBlanc, Leslie y

Duffield, (2005). Las concentraciones de BHBA en leche reflejan la concentración en el suero, pero son a lo más el 10 a 15% de lo presente en sangre (Duffield et al, 2009d).

2.1.3.1. Etiología

2.1.3.1.1 Metabolismo de la glucosa en rumiantes

El mantenimiento de unas concentraciones adecuadas de glucosa en la sangre es crítico para la regulación del metabolismo energético. Los rumiantes absorben muy poco carbohidrato dietético en forma de hexosa, ya que los carbohidratos dietéticos son fermentados en el rumen hasta ácidos grasos de cadena corta, principalmente acetato (70%), propionato (20%) y butirato (10%). En consecuencia, las necesidades de glucosa del rumiante deben ser satisfechas, principalmente, por la gluconeogénesis. El propionato y los aminoácidos son los principales precursores para la gluconogénesis, con el glicerol y el lactato de menor importancia. (Radostits, Gay, Blood, HINCHCLIFF, 2002a)

Propionato. Se produce en el rumen a partir del almidón, fibra y proteínas. Penetrando en la circulación portal y es eliminado con eficacia por el hígado, que es el principal órgano productor de glucosa. El propionato es el productor más importante de glucosa; un aumento de la disponibilidad puede agotar la utilización hepática de otros precursores de glucosa, y la producción de propionato se ve favorecida por la inclusión de abundante grano en la dieta. (Radostits et al, 2002b)

Aminoácidos. La mayor parte de aminoácidos son glucogénicos y, además, son importantes precursores para la gluconeogénesis. La proteína dietética es la fuente cuantitativa más importante, pero el escaso almacenamiento de proteína corporal es también una fuente importante; en conjunto, contribuyen a la síntesis energética y la síntesis de lactosa de la leche, así como la síntesis

de proteínas lácteas. (Radostits et al, 2002c)

Acetato dietético. Es transportado hasta los tejidos periféricos y la glándula mamaria, y metabolizado hasta ácidos grasos de cadena corta para almacenamiento en forma de lípidos o para secreción en forma de grasa láctea. (Radostits et al, 2002d)

2.1.3.1.2 Formación de cetonas

Las cetonas surgen a partir de dos fuentes principales: el butirato en el rumen y la movilización de grasa. Una gran proporción del butirato producido por la fermentación ruminal de la dieta se convierte en beta-hidroxibutirato (BHBA) en el epitelio del rumen, y se absorbe como tal. Los ácidos grasos libres producidos por la movilización de las grasas son transportados hasta el hígado y oxidados hasta producir acetil-CoA y NADH. El acetil-CoA puede oxidarse a través del ácido ATC o metabolizado hasta acetoacetil-CoA y, posteriormente, a acetoacetato y BHBA. Las cetonas BHBA y el acetoacetato se pueden emplear como fuente de energía, en condiciones normales, están presentes en la sangre y su concentración es el resultado del equilibrio entre la producción hepática y la utilización por los tejidos periféricos. (Radostits et al, 2002e)

2.1.3.1.3 Insuficiencia hepática en la cetosis

La captación de ácidos grasos por el hígado conduce a un hígado graso. Se ha demostrado que la insuficiencia hepática aparece en vacas, pero no en todos los casos bovinos. Se ha sugerido que la insuficiencia hepática se da en aquellas vacas predispuestas a la cetosis por sobrealimentación en el periodo seco. Puesto que una de las reacciones a la hipoglucemia es la movilización de las reservas grasas y la captación de grasa por el hígado. Es de esperar un cierto grado de insuficiencia hepática secundaria al desarrollo de la enfermedad. (Radostits et al, 2002f)

2.1.3.1.4 Papel de la insulina y el glucagón

La regulación del metabolismo energético de los rumiantes está gobernada, principalmente, por la insulina y el glucagón. Sus efectos neutralizantes desempeñan un papel central en el control homeostático de la glucosa. Una relación insulina: glucagón baja estimula la lipólisis en el tejido adiposo y la cetogénesis hepática. Las vacas, en las etapas iniciales de la lactación, tienen relaciones insulina: glucagón bajas debido a la baja insulina sanguínea, y están en estado catabólico. La elevación de las cetonas puede estimular la producción de insulina y puede actuar como una retroalimentación negativa. La regulación está directamente gobernada por la somatotropina, que es el determinante más importante de la producción láctea en el ganado vacuno y, además, es lipolítica. Los factores que disminuyen el aporte energético a los rumiantes, que aumentan la demanda de glucosa o que incrementan la utilización de grasa corporal como fuente de energía, tienen una mayor probabilidad de aumentar la producción de cetona y la cetonemia. Sin embargo, hay una considerable variación vaca-a-vaca en la susceptibilidad a la cetosis clínica. (Radostits et al, 2002g)

2.1.3.1.5 Equilibrio energético

En las vacas lecheras de alta producción hay, a menudo, un equilibrio energético negativo en las primeras semanas de la lactación. La ingesta más elevada de materia seca no aparece hasta las 8 – 10 semanas después del parto, pero la producción láctea máxima es a las 4-6 semanas, y la ingesta energética no puede mantener esa demanda.

En respuesta a un equilibrio energético negativo y unas concentraciones séricas bajas de glucosa e insulina, las vacas movilizaran el tejido adiposo con el consiguiente aumento en las concentraciones séricas de ácidos grasos no esterificados y

BHBA. El metabolismo mitocondrial hepático de los ácidos grasos favorece tanto la gluconeogénesis como la cetogénesis. Las vacas dividen los nutrientes durante la gestación y la lactación; las vacas están en riesgo de cetosis durante este periodo. De igual forma, los requerimientos de energía al final de la gestación. (Radostits et al, 2002h)

2.1.3.2. Etiología de la cetosis bovina

No es razonable considerar la cetosis clínica como el punto final del espectro de un estado metabólico que es común en vacas de alta producción en el periodo posparto. Esto es porque las vacas de alta producción al principio de la lactación están en un equilibrio energético negativo y son, en consecuencia, subclínicamente cetósicas. Los ruminantes son especialmente sensibles a la cetosis porque, aunque muy pocos carbohidratos se absorben como tales, es esencial un aporte directo de glucosa para el metabolismo tisular, en particular para la formación de la lactosa. La utilización de ácidos grasos volátiles con fines energéticos depende también de un aporte de glucosa disponible. Esta vulnerabilidad se ve exacerbada, además, y especialmente en la vaca, por la gran velocidad del recambio de la glucosa. En el periodo entre el parto y lactancia máxima, la demanda de glucosa se ve incrementando y no puede restringirse por completo. Las vacas reducirán la producción láctea en respuesta a una reducción de la ingesta energética, pero ello no continúa ni de un modo automático ni proporcional al principio de la lactación porque los estímulos hormonales para la producción láctea superan los efectos de la reducción de la ingesta alimentaria. En estas circunstancias, los niveles reducidos de glucosa provocarán un descenso en los niveles de insulina. Los ácidos grasos bajo la influencia de una baja relación insulina: glucagón y la influencia de una elevada concentración de somatotropina, y esto conduce a un aumento de cetogénesis. (Radostits et al, 2002i)

2.1.3.2.1 Cetosis subclínica

Las concentraciones elevadas de cetonas sanguíneas sin enfermedad clínica, la cetosis subclínica, se produce una mayor frecuencia que la cetosis clínica, y tiene una importancia económica significativa. Diversos estudios han demostrado que la cetosis subclínica es común en las vacas de alta producción, a las 2 - 7 semanas de posparto, con un registro de prevalencia que oscila entre el 7-34% (2,9-11). Solo se precisa una pequeña agresión adicional, nutricional o metabólica, para que se desarrolle una cetosis clínica. (Brockman y Loozeveld, 1986a)

2.1.3.2.2 Variación de vacas individuales

El índice de presentación de un estado energético negativo, y por tanto, la frecuencia de casos clínicos, sin lugar a dudas, ha aumentado claramente en el pasado reciente debido a un aumento abrupto en el potencial de lactación de la moderna vaca lechera. (Marteniuk y Herdt, 1988a).

Debido a la propiedad metabólica de la glándula mamaria en la repartición de nutrientes, especialmente de la glucosa, la producción láctea continúa a una velocidad alta, causando un agotamiento energético. En muchas vacas individuales, la necesidad de energía va más allá de la capacidad de ingesta de materia seca. (Marteniuk y Herdt, 1988b).

La cetosis clínica se ha producido en vacas lecheras recién paridas mediante la reducción de la ingesta alimentaria diaria de un 15-20%, *ad libitum*, y suplementando con 1,3-butanodiol, un sustrato cetogénico. Las características bioquímicas de la cetosis son: depleción de glucógeno hepático y aumentos importantes en los depósitos hepáticos de triglicéridos, y se produjeron cuerpos cetónicos aunque la cetosis solo se presentó en aquellas vacas que tenían predisposición a la enfermedad. (Marteniuk y Herdt,

1988c).

2.1.3.2.3 Tipos de cetosis bovina

Hay muchas teorías sobre la causa, la patogenia bioquímica y hormonal de la cetosis, y la importancia de los factores predisponentes. Las revisiones de estos estudios se citan al final de esta sección de patología. En general, se puede afirmar que la que la cetosis clínica se presenta en rumiantes cuando están sometidos a demandas sobre sus recursos de glucosa y glucógeno, que no se pueden satisfacer por su actividad digestiva y metabólica. Recientemente, Lean ha expuesto una clasificación de la enfermedad según su presentación natural en los rebaños lecheros, y que responde a la demanda lactacional inicial de glucosa, el aporte limitado de precursores propionato y cetonas preformadas o lípidos movilizados en la patogenia. Dicha clasificación comprende las siguientes génesis para la cetosis, que se tratara en su momento. (Marteniuk y Herdt, 1988d).

2.1.3.2.3.1 Cetosis primaria (cetosis de producción)

Se trata de la cetosis de la mayor parte de los rebaños, la llamada acetonemia estatal. Se presenta en vacas con una condición corporal buena o excesiva, que tienen un alto potencial de lactación y que están siendo alimentadas con raciones de buena calidad, hay una tendencia a que la enfermedad recurra en determinados animales, lo cual probablemente sea reflejo de la variación entre vacas con respecto a la capacidad digestiva o la eficacia metabólica. (Marteniuk y Herdt, 1988e).

Estas características no parecen ser hereditarias, y es más probable que las raciones causen una anomalía del metabolismo interno o de la función ruminal, y conduzcan al desarrollo de una cetosis. (Marteniuk y Herdt, 1988f).

2.1.3.2.3.2 Cetosis secundaria

Se presenta cuando otra enfermedad provoca una disminución de la ingesta dietética. La causa de la reducción de la ingesta de alimentos es, por lo general, resultado de un desplazamiento del abomaso, una reticulitis traumática, una, metritis, una mastitis u otras enfermedades comunes del periodo posparto. También se ha observado una incidencia elevada de cetosis en rebaños afectados con fluorosis. (Marteniuk y Herdt, 1988g).

Una forma de presentación infrecuente fue un brote de acetonemia en un rebaño lechero alimentado con una ración contaminada por un nivel bajo (9.5 ppm) de lincomicina, que provoco una disfunción microbiana ruminal. La proporción de casos de acetonemia son secundarios, y su diagnóstico como tal, son materias de gran interés, en la medida en que una proporción importante de casos de cetosis son secundarios a otra enfermedad. (Marteniuk y Herdt, 1988h).

2.1.3.2.3.3 Cetosis alimentaria

Esta forma se debe a cantidades excesivas de butirato en el ensilado y, posiblemente, también debido a una disminución de la ingesta alimentaria como consecuencia de una mala palatabilidad de un ensilado alto en butirato. El ensilado realizado a partir de material carnoso puede ser más altamente cetogénico que otros tipos de ensilado debido a su mayor contenido en ácido butírico preformado. El ensilado malo también es una causa, y las aminas biógenas tóxicas, como la putresina, también pueden contribuir. Habitualmente, este tipo de cetosis es subclínica, pero puede predisponer al desarrollo de una cetosis de producción o primaria. (Marteniuk y Hert, 1988i)

2.1.3.2.3.4 Cetosis por inanición

Se presenta en el ganado vacuno con mala condición corporal y que está alimentado con piensos de mala calidad. Hay una deficiencia de propionato y proteína procedentes de la dieta y una capacidad limitada de gluconeogénesis a partir de las reservas corporales. El ganado afectado se recupera con una alimentación correcta. (Lean, Bruss, Baldwin y Trout, 1992a)

La subnutrición se presenta cuando las vacas están mal alimentadas, por consumir raciones inadecuadas a base de insumos concentrados y/o forraje o ensilaje de mala calidad. (Andresen, 2001a)

2.1.3.2.3.5 Cetosis debido a una deficiencia nutricional específica

Las deficiencias dietéticas específicas de cobalto y, posiblemente, de fósforo, pueden conducir a una incidencia elevada de cetosis. Esto se puede deber, en parte, a una reducción de la ingesta de nutrientes digestibles totales (NDT), pero en la deficiencia de cobalto, el defecto esencial es un fracaso en la metabolización del ácido propiónico en el ciclo del ácido tricarboxílico (ATC). El problema se restringe a las zonas mundiales de deficiencia de cobalto, aunque se ha descrito la aparición de deficiencia de cobalto en vacas lecheras de alta producción en zonas no deficientes. (Marteniuk y Hert, 1988j).

2.1.3.3. Epidemiología

2.1.3.3.1 Presentación

La cetosis es una enfermedad del ganado vacuno lechero, y su prevalencia es mayor en muchos países donde se practica la cría intensiva. Aparece principalmente en animales estabulados durante el invierno y los meses de primavera y es rara en vacas que paren en la postura. (Lean et al, 1992b)

La aparición de la enfermedad depende mucho del manejo y la nutrición, y varía según el rebaño. Como sería de esperar, los índices de incidencia lactacional difieren según los estudios, pero dos estudios canadienses han comunicado unos índices de 3.3 y 7.4%, y un estudio finlandés, un 6%. Los índices de cetosis subclínica con mucho más elevados, en especial en rebaños infranutridos, y pueden acercarse al 34%. (Lean et al, 1992c)

2.1.3.3.2 Factores de riesgo animal y de manejo

La enfermedad aparece en el periodo posparto inmediato, presentándose un 90% de los casos en los primeros 60 días de lactación. Independientemente de la etiología específica, se produce principalmente durante el primer mes de lactación, con menor frecuencia en el segundo mes, y solo de forma ocasional al final del embarazo. En estudios diferentes la media de tiempo de inicio tras el parto varía entre los 10-28 días. (Lean et al, 1992d)

Se pueden afectar vacas de cualquier edad, pero la enfermedad aumenta desde una prevalencia baja en el primer parto hasta un máximo en el cuarto. La cetosis clínica también puede recurrir en la misma lactación. Hay pocas pruebas de que exista una predisposición hereditaria. (Lean et al, 1992e)

Además de aquellas enfermedades que producen cetosis secundaria, hay un mayor riesgo para el desarrollo de cetosis en

vacas que tienen un periodo seco ampliado, un periodo seco largo, están excesivamente gordas en el momento del parto y que padecen fiebre de la leche, retención de placenta, cojera o hipomagnesemia. La sobrealimentación al final de la lactación predispone a la cetosis en la siguiente lactación. (Herdt y Emery, 1992a)

Las vacas con mellizos tienen también riesgo de cetosis en las etapas finales de la gestación, las vacas que han recibido somatotropina bovina pueden tener un riesgo menor para cetosis en la siguiente lactación. (Herdt y Emery, 1992b)

2.1.3.3.3 Significado económico

La cetosis, clínica y subclínica, es una de las principales causas de pérdida de una granja lechera. En casos raros, la enfermedad es irreversible y el animal afectado fallece, pero la principal pérdida económica se debe a la pérdida de producción cuando la enfermedad está presente y a la imposibilidad de retornar a una producción completa después de la recuperación. La cetosis, tanto clínica como subclínica, se acompaña de una disminución de la producción láctea y de menores cantidades de proteína láctea lactosa láctea, y de un aumento del riesgo del retardo del estro y menores índices de concepción en el primer servicio, aumento de los intervalos entre partos y aumento del riesgo de enfermedad ovárica quística y mastítica. (Herdt y Emery, 1992c)

2.1.3.4. Patogenia

Los principales trastornos metabólicos observados, hipoglucemia y cetonemia pueden tener efecto sobre el síndrome clínico, sin embargo en la enfermedad experimental en el ganado vacuno, no siempre está claro que es lo que determina el desarrollo de los signos clínicos en casos que pasan de una cetosis subclínica a clínica. (Herdt y Emery, 1992d)

En muchos casos la gravedad del síndrome clínico es proporcional al grado de hipoglucemia y esto junto con la respuesta rápida a la glucosa administrada por vía parenteral en el ganado vacuno, sugiere que la hipoglucemia es el factor predominante. Esta hipótesis se sostiene gracias al desarrollo de una hipoglucemia prolongada y un síndrome clínico similar al de la cetosis tras la inyección IV o SC, experimental de insulina (2 unidades/kg de peso corporal). (Brockman y Loozeveld, 1986b)

Sin embargo en la mayor parte de los casos de campo, la gravedad del síndrome clínico es también groseramente proporcional al grado de cetonemia. Se trata de una relación incomprensible ya que los cuerpos cetónicos se producen en grandes cantidades cuando la deficiencia de glucosa aumenta. No obstante los cuerpos cetónicos pueden ejercer una influencia adicional sobre los signos observados. (Brockman y Loozeveld, 1986c)

Es sabido que el ácido acetoacético es tóxico y probablemente contribuya al coma terminal en la diabetes mellitus humana. Se cree que los signos nerviosos que aparecen en algunos casos de cetosis bovina están causados por la producción de alcohol isopropilo, un producto de degradación del ácido acetoacético en el rumen aunque el requerimiento de glucosa por parte del tejido nervioso para mantener una función normal puede ser un factor en estos casos. (Brockman y Loozeveld, 1986d).

La cetosis espontánea del ganado vacuno suele ser fácilmente reversible con tratamiento, es habitual una respuesta una respuesta incompleta o temporal debido a la existencia de una enfermedad primaria en la que la cetosis es solo secundaria, aunque una degeneración grasa del hígado en casos prolongados puede alargar el periodo de recuperación, los cambios en la flora ruminal tras un periodo prolongado de anorexia puede ser

también una causa para el deterioro continuado de la digestión. La mayor susceptibilidad de las vacas en el post parto a las infecciones locales y sistémicas puede estar relacionada con el deterioro del estallido respiratorio de neutrófilos que aparece con niveles elevados de BHBA. (Brockman y Loozeveld, 1986e)

2.1.3.5. Hallazgos clínicos

Se describen las dos formas principales de cetosis (caquéctica y nerviosa) aunque se trata de los dos extremos de un rango de síndromes en los que los signos de inanición y nerviosos están presentes en grados variables de importancia. (Andresen, 2001b)

2.1.3.5.1 Cetosis clínica:

Se observan trastornos de la digestión y muchas veces también alteraciones del sistema nervioso (sensorio y locomoción). Según los síntomas predominantes se distingue entonces una cetosis “digestiva” y una cetosis “nerviosa”; pero en la práctica esta distinción solo tiene valor para diferenciarla de otros padecimientos. (Andresen, 2001c)

Por lo general la cetosis comienza con una indigestión más o menos manifiesta con inapetencia o apetito cambiante, disminución o ausencia de rumia, reducida actividad preestomacal, constipación (heces oscuras, apelmazadas, cubiertas de moco), más tarde incluso diarrea, así como mayor sensibilidad a la percusión en el área hepática agrandada, difícil de diferenciar de la reticuloperitonitis traumática. (Andresen, 2001d)

La inapetencia suele ser creciente, rechazando primero el silo, luego el concentrado y finalmente también el heno, hasta que cesa totalmente la ingesta y el paciente adelgaza rápidamente (lipomovilización). Junto a ello disminuye paulatinamente la

producción de leche. Comúnmente también está afectado el sistema nervioso; en casos leves el paciente aparece desganado o ausente (inmovilidad , mirada fija y vidriosa) o cansado , somnoliento (cabeza baja o apoyada , parpados cerrados, flexión de los menudillos posteriores); en los casos graves puede estar comatoso (echado en posición de opistotono) o tiene períodos de excitación recidivantes; salivación , masticación en vacío, chasquidos de la lengua, lamido o roído labioso de la propia piel o de objetos cercanos (pica) comportamiento agresivo, salvaje hasta rabioso, bramidos, o caída brusca, circunstancialmente también ceguera, deambulación en círculos o contra obstáculos empujando hacia delante y/o tropezando (cetosis nerviosa). (Andresen, 2001e)

Las frecuencias cardíacas y respiratorias suelen ser normales pero están aumentadas en la fase excitatoria, y disminuidas en la fase depresiva. La temperatura corporal al principio esta aumentada pero luego se mantiene normal. La presencia de fiebre es indicio de una cetosis secundaria. El manto piloso se torna mate y áspero. (Andresen, 2001f)

Es característico el olor desagradable, dulzón a fruta podrida de los cuerpos cetónicos, en el aire inspirado y en la superficie del cuerpo. Este olor también se percibe en la leche de los pacientes y en su orina acuosa, clara, levemente amarillo verdosa y opaca. (Andresen, 2001g)

En la cetosis secundaria el cuadro sintomático metabólico es el mismo que en la forma primaria. Pero a esto se agregan las manifestaciones clínicas de un padecimiento primario simultáneo con el parto que varía en cada caso pero afecta el apetito y/o la motilidad de los preestómagos provocando o manteniendo el bache energético. Muchas veces predominan los síntomas de la enfermedad primaria, de manera tal que sus efectos metabólicos

pasan inadvertidos sin tenerlos en cuenta para el tratamiento. (Dirksen, Gründer, y Stüber, 2005a)

La **cetosis subclínica** es común en vacas de alta producción y períodos largos de seca. Se refleja en menor producción, anestro y a veces endometritis. (Andresen, 2001h).

Se debe sacar una muestra para determinar la BHBA en las vacas a los 2 a 14 días post parto. Posiblemente hasta los 21 días después del parto, cuando se eleva la incidencia de cetosis subclínica. (Andresen, 2001i)

Se debe tener cuidado en el uso de análisis en la granja para la detección de cetonas dentro de las primeras 48 horas después del parto. Durante este periodo, es muy común un análisis positivo de cetonas debido a un importante aumento en las concentraciones en el plasma durante el parto. (Andresen, 2001j)

2.1.3.5.2 Cetosis subclínica:

Las vacas lecheras que son capaces de equilibrar el déficit de energía con sus propias reservas corporales, durante el control con frecuencia muestran un contenido de cuerpos cetónicos en sangre, leche y orina más o menos superior a lo normal, pero no síntomas manifiestos de enfermedad salvo pérdida de peso, incluso disminución de la producción láctea o merma en la fertilidad. (Andresen, 2001k)

Según la alimentación y otras circunstancias ya anunciadas este estado premórbido puede pasar más o menos rápidamente a una cetosis clínica, por lo que su diagnóstico tiene hoy en día una creciente importancia. (Andresen, 2001l)

La producción láctea potencial está reducida en un 1- 9% .La infertilidad puede presentarse en forma de anomalía ovárica, inicio retardado del estro o endometritis conduciendo a un aumento en

el intervalo parto a concepción y una reducción del índice de concepciones en la primera inseminación. (Brockman y Looorveld, 1986f)

2.1.3.6. Diagnóstico.

La anamnesis siempre es importante como siempre que se quiere llegar a un diagnóstico. Los indicios de cetosis son inapetencia, rápido adelgazamiento, olor a cuerpo cetónicos, y comprobación de cuerpos cetónicos en orina, leche o sangre. Para determinar los cuerpos cetónicos al pie de la vaca en orina o leche pueden utilizarse las tiras o tabletas reactivas comerciales. En la actualidad adquiere gran importancia el control del rebaño de vacas lecheras de alta producción sobre la presencia de casos de cetosis subclínica como indicador de si la alimentación está cubriendo o no los requerimientos energéticos. Para ello se analiza repetidamente la leche de todas las vacas en la primeras 2-3 semanas postparto. Los análisis al pie de la vaca son cualitativos, cuantos más resultados positivos se encuentren en las vacas del grupo de comienzo de lactancia, tanto mayor es el bache energético existente en el establo. (Dirksen et al, 2005b)

La cetosis es fácil de diagnosticar en base a los resultados del análisis de orina y de leche, pero muchas veces es difícil decidir si un padecimiento simultaneo a la cetosis debe considerarse desencadenante, mantenedor o consecuente. Según el caso se trata de RMF, metritis, acidosis ruminal, desviación de abomaso, reticuloperitonitis traumática, un padecimiento que curse con inapetencia, etc. (Dirksen et al, 2005c)

El diagnóstico de la cetosis subclínica se puede llevar a cabo en leche usando **Ketolac Test** (Hoechst) que mide BHBA, o **Pink-Test** (Profs-products.com) que mide aceto-acetato. Requieren ubre sana; niveles altos de CS afectan resultados. Crucial para la prevención de la cetosis es la reducción en la severidad y

duración del balance energético negativo. (Andresen, 2001l).

Se pueden monitorizar las cetonas en sangre, leche y orina. Los análisis de orina y la leche requieren unas tiras reactivas o polvo que cambia de color ante la presencia de cetonas. Los análisis de sangre así como algunos análisis en la leche detectan el BHBA, la cetona predominantemente en situaciones de enfermedad. (Geishauser et al, 2001c)

Los valores límites usados generalmente para la cetosis subclínica son:

BHBA en la sangre =1400umol/L

BHBA en leche=100umol/L a 200umol/L

(Geishauser et al, 2001d)

2.1.3.7. Pruebas analíticas.

La hipoglucemia, la cetonemia y la cetonuria son características de la enfermedad. (Brockman y Looxveld, 1986g).

2.1.3.7.1 Glucosa En Sangre

Los niveles son inferiores a los normales de aproximadamente 50 mg/dl a 20- 40mg/dl. (Brockman y Looxveld, 1986h).

2.1.3.7.2 Cetona en sangre

Los niveles están elevados a partir del nivel normal de hasta 10 mg/dl hasta 10 – 100 mg /dl, los niveles también están altos en la cetosis secundaria pero rara vez superan los 50 mg/ dl. Las vacas normales tienen concentraciones inferiores 1 mmol/L y las vacas con cetosis tienen niveles superiores a 1,5 mmol/L y a menudo superan los 2,5 mmol/L. (Brockman y Looxveld, 1986i).

2.1.3.7.3 Cetonas en Orina

El cálculo cuantitativo de las cetosis urinarias puede ser poco satisfactorio debido a las amplias variaciones que se producen dependiendo de la concentración de la orina. En el ganado vacuno clínicamente normal las cetonas urinarias pueden ser de hasta 70 mg/dl, aunque por lo general suelen ser inferiores a 10mg/dl. Niveles de 80 a 1300 mg/dl indican la presencia de cetosis, bien primaria o secundaria. (Brockman y Looxveld, 1986j)

2.1.3.7.4 Cetona en La Leche

Los niveles son algo menos variable oscilando entre valores normales de 3 mg. Hasta un nivel medio de 40 mg/dl en vacas con cetosis. (Brockman y Looxveld, 1986k)

2.1.3.8. Tratamiento

El tratamiento de la cetosis clínica primaria se basa en la administración de glucosa 500 ml EV + glucocorticoide inyectable (p.ej. dexametasona 10-20 mg); por lo general una sola vez es suficiente (si el diagnóstico es correcto); repetir en caso necesario. Si no hay respuesta, verificar el diagnóstico (p.ej. descartar lipidosis puerperal o desplazamiento de abomaso) (Andresen, 2001m).

2.1.3.9. Medidas preventivas

Monitoreo de buena condición corporal durante toda la lactancia y evitar sobrecondicionamiento durante la seca, pero asegurando correcto balance nutricional y aporte de fibra de buena calidad; asegurar bastante espacio para las vacas en corrales de seca y de transición. (Marroquín, 2013a)

Propilenglicol 200 mL diarios *en toma oral* (que provoca elevación de picos de insulina); desde el parto hasta ≤ 60 días considerar

suplementación en la ración:

Niacina: 6g/vaca/día; desde el parto hasta ≤ 60 días

Monensina: >150 y <450 mg/vaca/día (puede deprimir la producción de grasa). (Marroquín, 2013b)

2.1.4. Beta-hidroxibutirato

Beta-hidroxibutirato (BHBA). Es un cuerpo cetónico que en el plasma de los animales se aumenta cuando existe deficiencia de energía. (BHBA) representa la movilización de lípidos. Es un cuerpo cetónico, el (BHBA) es un producto fisiológico del metabolismo de los glúcidos y lípidos. Proviene de la fermentación de los hidratos de carbono en el rumen. Sus precursores son las grasas y los ácidos grasos de la dieta, su precursor directo es el ácido butírico, cuyo metabolismo ocurre especialmente en el epitelio ruminal y en el hígado donde es transformado finalmente. Son producidos en la movilización de reservas de grasa. Son convertidos en el hígado en acetoacetato y después en BHBA, el cual puede ser una fuente de energía para la síntesis de la grasa en la leche. El B-hidroxibutirato posee un efecto glucogénico indirecto, menor al del propionato y mayor al del acetato. Detectarla mediante el uso de pruebas específicas que permiten determinar el aumento de la concentración de cuerpos cetónicos como el B-hidroxibutirato en la sangre, o el acetoacetato en la leche y orina. (Murray et al, 2009a)

2.1.4.1. Origen

La degradación de los ácidos grasos contiene cuatro pasos que son, en esencia, inversos los unos de los otros. La degradación es un proceso oxidativo que convierte un ácido graso en un grupo de unidades de acetilo activadas (Acetil-CoA). (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008)

Aun cuando los ácidos se oxidan hacia Acetil-CoA y se sintetizan a partir de esta última, la oxidación de ácidos grasos no es la reversión de su biosíntesis, sino que es un proceso por completo diferente que tiene lugar en un compartimiento separado de la célula. La separación entre la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y en la biosíntesis en el citosol permite que cada proceso se controle de modo individual y se reintegre con los requerimientos del tejido. Cada paso en la oxidación de ácidos grasos incluye derivados de Acetil-CoA, y es catalizado por enzimas separadas, utiliza NAD⁺ y FAD como enzimas, y genera ATP. Es un proceso aeróbico. (Murray et al, 2009b)

El Acetil CoA producido en la β -oxidación de los ácidos grasos puede ser totalmente oxidado en la mitocondria durante el ciclo de Krebs. Una fracción importante del Acetil CoA puede, sin embargo, convertirse en la mitocondria del hígado en acetoacetato y β -hidroxibutirato, compuesto que junto con la acetona se denominan cuerpos cetónicos. (Murray et al, 2009c)

La formación de cuerpos cetónicos incluye las siguientes reacciones:

- Dos moléculas de Acetil CoA se condensan por acción de la Acetil CoA acetiltransferasa o tilasa o acetil CoA transacetilasa para formar acetoacetil CoA.
- Condensación del acetoacetil CoA con una tercera molécula de acetil CoA por acción de la hidroximetilglutaril CoA sintetasa para formar β -hidroxi β -metilglutaril CoA (HMG CoA); el acetoacetato puede ser reducido a β -hidroxibutirato por la β -hidroxibutirato deshidrogenasa o descarboxilarse enzimáticamente en acetona.
- El cerebro, en condiciones normales, usan solamente glucosa como fuente energética; los ácidos grasos son incapaces de atravesar la barrera energética; pero durante inanición, los

cuerpos cetonicos se transforman en las mayores de fuentes de energía del cerebro. Los cuerpos cetonicos son los equivalentes hidrosolubles de los ácidos grasos.

- Degradación del HMG CoA a acetoacetato y acetil CoA por la (HMG-CoA liasa).
- En condiciones normales, la formación de acetona es insignificante, pero en condiciones patológicas, la cantidad de acetona en sangre puede ser suficiente como para ser detectada. (Aquino y Zegarra, 2009)

2.1.4.2. Valores referenciales

El valor de referencia en los cuerpos cetónicos en preparto es menor a 0.5 mmol/L y en la lactancia menor a 1.0 mol/L. El nivel óptimo para vacas en lactancia es menor igual a 1.2 mmol/L.

Parámetros para la evaluación de β -hidroxibutirato en sangre

Normal	< 1.2 mmol/L
Cetosis Clínica	> 2.9 mmol/L
Cetosis Subclínica	1.2 – 2.9 mmol/L

Fuente: (Marroquín, 2013c).

2.1.4.3. Interpretación

El valor mayor de BHBA en las vacas al inicio de la lactación refleja lipomovilización. Los valores menores de BHBA en vacas lecheras reflejan menor lipomovilización. Fisiológicamente se encuentran valores basales de BHBA producto de la fermentación ruminal. El aumento BHBA de la concentración se origina en la movilización del tejido adiposo como respuesta al balance energético negativo (BEN), situación frecuente en la primera etapa de la lactación. (Aguilar, 2012a)

La condición corporal (CC) en el periodo seco, mostraron igual

valores altos de BHBA en el trópico en ganado lechero. La concentración de BHBA se encuentra relacionada directamente con la tasa de movilización de reservas lipídicas en momentos de déficit energético, y es el indicador más usado para determinar dicho balance. Altas concentraciones de BHBA están directamente relacionadas con tasas elevadas de movilización de reservas grasas, del mismo modo, valores plasmáticos de BHBA tienen una mayor utilidad en los casos en que la demanda de glucosa por el organismo es crítica como al inicio de la lactancia y al final de la gestación. Del mismo modo también es posible determinar el balance energético en un animal aplicando la prueba de Rothera que se realiza en muestras de leche siendo de menor costo y más fácil implementación en un hato, la cual tiene una mayor sensibilidad para acetoacetato. Este último es el principal precursor de grasa en la leche, proviene de la formación de los ácidos grasos volátiles sintetizados en el rumen producto de la fermentación de los carbohidratos de la dieta, aunque existe un porcentaje muy pequeño que es de origen endógeno. (Aguilar, 2012b)

2.2. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION.

2.2.1. Análisis de tesis.

Cucunubo L., Strieder C., Witwer F., Noro M. (2013). Diagnóstico de cetosis subclínica en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche, Colombia

El objetivo de este trabajo fue comparar y asociar la presentación de cetosis subclínica y balance energético negativo (BEN), diagnosticados mediante las concentraciones de beta-hidroxibutirato (BHBA) plasmático, con indicadores sanguíneos, urinarios y lácteos de energía en vacas lecheras. Setenta y cuatro vacas Holstein-Friesian fueron empleadas desde la tercera semana pre-parto hasta la octava posparto, obteniéndose

muestras de plasma, orina y leche semanalmente; en plasma se determinó las concentraciones de BHBA, ácidos grasos no esterificados (NEFA) y glucosa; en orina se realizó la prueba de Rothera y se determinó la excreción de BHBA y el pH; en leche se determinó el contenido de grasa y proteína. Se consideró como puntos de corte para cetosis β -HB $>1,0$, $>1,2$ y $>1,4$ mmol/L y para la presentación de BEN cuando NEFA >300 μ mol/L en preparto y β -HB $>0,6$ mmol/L en el posparto. La intensidad de la reacción de la prueba de Rothera y la concentración de BHBA urinario se relacionaron con las concentraciones de β -HB plasmático ($r=0,57$, $P<0,05$ y $r=0,42$, $P<0,05$, respectivamente). La prueba de Rothera se asoció con los distintos puntos de corte de cetosis ($P<0,05$), así como con BEN ($P<0,05$). La concentración plasmática de BHBA presentó una asociación leve ($P<0,05$) con NEFA y glucosa y nula ($P>0,05$) con los indicadores lácteos y el pH urinario. Se concluye que las reacciones leve y moderada de la prueba de Rothera en orina son indicadores de BEN, mientras que las reacciones moderada e intensa son indicadoras de cetosis subclínica.

Marroquín, O. (2013). Evaluación de los niveles de Cuerpos Cetonicos utilizando métodos electrónicos en vacas lecheras Holstein post parto según la condición corporal y nivel productivo, Arequipa 2013

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los niveles de cetonas, específicamente β Hidroxibutirato, en vacas lecheras Holstein entre 20 a 50 días post parto, dividiendo a estas en dos grupos según su estado de lactación el primer grupo comprende vacas entre los 20 y 35 dpp y el segundo entre los 36 y 50 dpp utilizando un cetómetro electrónico en el Fundo Don Quijote de la Irrigación de Yuramayo. Se utilizaron 20 vacas para cada grupo las cuales fueron muestreadas, a las cuales se tomaron muestras de sangre de la vena caudal, para luego ser colocadas en el

cetómetro electrónico (FreeStyle Optium), donde finalmente se realizó la lectura. Los resultados de los niveles de β Hidroxibutirato en sangre se evaluaron según los siguientes parámetros: cetosis clínica (>2.9 mmol/L), cetosis subclínica ($1.2 - 2.9$ mmol/L) y normal (< 1.2 mmol/L). Se encontraron niveles de β Hidroxibutirato de 2.68 ± 1.70 mmol/L para el primer grupo (20 – 35 dpp), mientras que para el segundo grupo (36 – 50 dpp) los niveles de β Hidroxibutirato fueron de 1.52 ± 1.17 mmol/L. Luego de ser evaluadas las muestras se observó si hay relación entre la condición corporal y la presencia de cetosis así también si hay relación entre la producción de leche y la presencia de cetosis, para lo cual se utilizó una prueba de *chi* cuadrado, la cual nos indicó que no existe relación significativa tanto para condición corporal y producción de leche con la presencia de cetosis. La prevalencia de cetosis subclínica en relación a las condición corporal se vio incrementada en aquellas vacas con una condición corporal entre 2.0 a 2.75 para el primer y segundo grupo con un 61.54% y 71.23% respectivamente mientras que la prevalencia de cetosis subclínica en relación a la producción de leche se vio incrementada en vacas con producciones menores a 35 kg con un 66.67% para ambos grupos. En tanto si hablamos del total de las muestras tomadas para cada grupo la cetosis subclínica representa el 45% y 40% para el primer y segundo grupo respectivamente. No se encontró asociación estadística ($p > 0.05$) entre los días post parto (estado de lactación) y la presencia o ausencia de la enfermedad. Al evaluar los animales según el número de partos tampoco se encontró asociación estadística ($p < 0.05$) entre el número de partos y la presentación o no de cetosis (clínica o subclínica).

Céspedes, J. (2013) Evaluación de los niveles de cetonas utilizando el cetómetro electrónico, en vacas lecheras Holstein en la etapa de transición y post parto. Fundo América, Irrigación de

Santa Rita de Sigwas, Arequipa 2013

El presente trabajo tuvo como finalidad evaluar los niveles de cetonas, en vacas lecheras Holstein en las etapas de transición (7dpp) y post parto temprano (20 dpp), utilizando un cetómetro electrónico en el Fundo América de la Irrigación de Santa Rita de Sigwas. Se utilizaron 20 vacas las cuales fueron muestreadas a los 7 y 20 días postparto, de las cuales se tomaron muestras de sangre de la vena caudal, para luego ser colocadas en el cetómetro electrónico (OptiumXceed©), donde finalmente se realizó la lectura. Los resultados de los niveles de β Hidroxibutirato en sangre se evaluaron según los siguientes parámetros: cetosis clínica (>2.9 mmol/L), cetosis subclínica ($1.2 - 2.9$ mmol/L) y normal (< 1.2 mmol/L). Se encontraron niveles de β Hidroxibutirato para vacas en transición de 1.79 ± 0.78 mmol/L, del mismo modo para vacas en postparto temprano de 2.34 ± 1.65 mmol/L. Comparando los niveles de β Hidroxibutirato entre los 7 y 20 dpp de las vacas muestreadas, mediante una prueba de t pareada, se produjo un incremento significativo ($p < 0.05$) en el promedio de este metabolito sanguíneo entre el día 7 (1.66 mmol/L) y el día 20 (2.33 mmol/L). La prevalencia de cetosis subclínica a los 7 días post parto fue de 78,9%, A los 20 días postparto la cetosis subclínica disminuyó a 47.4 %, sin embargo la prevalencia de cetosis clínica se incrementó a un 26.3 % de los animales muestreados. Se encontró una fuerte asociación estadística ($p < 0.05$) entre los días post parto (estado de lactación) y la presencia o ausencia de la enfermedad. Al evaluar los animales según el número de partos no se encontró asociación estadística ($p > 0.05$) entre el número de partos y la presentación o no de cetosis (clínica o subclínica) a los 7 y 20 dpp. Se aplicó un análisis de regresión entre los valores de BHBA medidos con el cetómetro electrónico Optium Xceed© (sangre) y el dispositivo Porta Check BHB© (leche) a los 7 días post parto, el

cual indicó que existe una baja relación ($r^2=0.49$) entre el cetómetro electrónico y el Porta Check BHB. Sin embargo cuando se aplicó el mismo análisis a los 20 días post parto, se encontró que la relación mejoró notablemente ($r^2=0.77$), pudiendo establecerse que existe una mejor concordancia entre ambos dispositivos en este estado de lactación. El cetómetro electrónico demostró una alta precisión en la detección de vacas con cetosis clínica y subclínica y por su practicidad y fácil manejo constituyen una herramienta invaluable para el diagnóstico oportuno de esta enfermedad metabólica.

Céspedes, J. (2011). Presentación de alteraciones metabólicas-nutricionales en rebaños lecheros pastoriles de cinco macrozonas en el sur de Chile.

En 13 rebaños lecheros de cinco macrozonas en el sur de Chile, se determinó la presentación de alteraciones metabólicas-nutricionales de energía, proteína, minerales y acidosis ruminal subaguda (SARA). Los rebaños se seleccionaron de las regiones de Los Ríos y de Los Lagos desde diferentes zonas agroecológicas y cuya alimentación principal estaba basada en el pastoreo de praderas. En el otoño y la primavera de 2009, de cada rebaño se seleccionaron 7 vacas multíparas en transición post parto (5 a 35 días) y 7 vacas en el periodo alrededor del pico de lactancia (50 a 120 días). Posterior a la ordeña de la tarde, de cada vaca se obtuvo muestras de sangre para evaluar el balance metabólico de energía y proteína y la sincronía ruminal de PDR: energía, mediante las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados, beta-hidroxibutirato, albúmina y urea. El balance metabólico mineral se determinó mediante la medición de las concentraciones plasmáticas de Ca, fosfato inorgánico (Pi), Mg, K y Cu; concentraciones séricas de Zn, Na y la actividad sanguínea de GPx (E.C.1.11.1.9). También se obtuvo una muestra de líquido ruminal, mediante ruminocentesis dorsal en el

flanco izquierdo, para la determinación del pH. Se calculó la media \pm DE en cada variable, según periodo de lactancia y estación del año. Se determinaron las diferencias entre periodos y estación (ANDEVA o Kruskal-Wallis). Las frecuencias de presentación de las alteraciones metabólico-nutricionales de energía, proteína, minerales y de SARA y sus diferencias entre periodos y estaciones fueron determinadas (tabla de contingencia 2x2). Se consideró significativo $P < 0,05$. Las variables analizadas señalaron que las principales alteraciones metabólico – nutricionales fueron: balance energético negativo (BEN) severo (66%) y asincronía ruminal de PDR: energía (80%) distribuidos en ambos periodos y estaciones, mientras que cetosis (3%) y carencia de PDR (7%) se observaron en baja frecuencia. El principal factor de variación fue el rebaño. Carencias de minerales se observaron tanto en otoño como en primavera siendo la estación del año y el rebaño los factores más significativos. Las carencias más importantes fueron de Ca (19%), Mg (30%), Na (18%), K (21%) y Se (13%). Mientras que el exceso de minerales más importante fue el de Pi (23%) principalmente en primavera; excesos de Ca (9%) y Cu (7%) se observaron en ambos periodos de lactancia y estaciones. Los principales factores de variación del pH del líquido ruminal fueron aquellos asociados al rebaño y a la estación del año. SARA se observó en ambos periodos de lactancia y estaciones del año (19%) con una tendencia a presentar mayores frecuencias en otoño.

Aguilar, A (2012). Perfil metabólico en ganado lechero, Cuenca-Ecuador.

Con el objetivo de proporcionar un documento bibliográfico a ganaderos, estudiantes de Medicina Veterinaria, Profesionales agropecuarios, sobre la importancia del “Perfil metabólico en el ganado lechero.” Sobre estos trastornos que se presentan con mucha frecuencia en las vacas lecheras en forma subclínica. Los

animales pueden llegar a disminuir en un 10 a 25% su producción y baja su fertilidad, aunque en apariencia pueden mostrar buen estado de salud, sin que el propietario se percate de su presencia. Uno de los cambios fisiológicos que experimenta el animal al acercarse a la lactancia es el aumento en sus requerimientos energéticos, que pueden incrementarse hasta un 23% durante el último mes de gestación, además, durante este tiempo el consumo de alimento disminuye hasta un 30%, conduciendo a la vaca a un balance energético negativo que empieza un mes antes del parto, esto se acentúa en la primera semana postparto y se puede extenderse hasta la séptima semana postparto. El balance energético negativo obliga a la vaca a realizar un ajuste metabólico que se caracteriza por la movilización de sus reservas (lípidos corporales) y por el aumento de la concentración plasmática de ácidos grasos libres. Para evaluar el grado de movilización de los lípidos y la magnitud del desequilibrio energético se han empleado las pruebas químicas séricas denominadas perfiles metabólicos. Es un método de diagnóstico paraclínico para detectar alteraciones metabólicas en rebaños lecheros. Los analitos (sustancias) más usados con este propósito son: glucosa, colesterol, triglicéridos, AGL, butiratos beta-hidroxi-butarato.



III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Localización del trabajo

3.1.1.1. Espacial.

El presente trabajo se realizó en Establo Los Rosales de Agrícola Pampa Baja SAC, ubicado en la Irrigación Majes, Distrito de Majes, Provincia de Caylloma y Departamento de Arequipa:

- Se encuentra a 100 km de la capital del Departamento de Arequipa.
- A una altitud entre los 1400 y 1700 m.s.n.m.
- Con una temperatura promedio máxima es de 22.9 C° y la temperatura promedio mínima es de 16.7 C°.

3.1.1.2. Temporal.

El periodo de análisis de datos y experimentación del presente trabajo de investigación se realizó entre los meses de Enero a Mayo del 2015.

3.1.2. Materiales biológicos.

- Muestras de sangre.
- Vacas Holstein Friesian.

3.1.3. Materiales de laboratorio

- Mandil blanco

3.1.4. Materiales de campo

- Registros reproductivos del productor.
- Algodón.
- Soga.

- Maletín médico de campo.
- Botas de campo.
- Mameluco de trabajo.
- Guantes de látex.

3.1.5. Equipos y maquinaria

- Teléfono móvil.
- Centrifuga.
- Fotocolorímetro.

3.1.6. Otros materiales

- Materiales de escritorio
- Material fotográfico
- Material de impresión
- Equipo de procesamiento de datos (laptop)

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Muestreo

3.2.1.1. Universo

Vacas en post parto temprano entre 0 y 45 días post parto, aproximadamente 350 vacas en el establo en estudio.

3.2.1.2. Tamaño de la muestra

Se seleccionó una muestra del tamaño conveniente de 60 vacas tomadas aleatoriamente de la población total de vacas en post parto temprano entre 0 y 45 días post parto del establo, al inicio del estudio, para garantizar un número mínimo de 20 vacas o repeticiones por cada tratamiento.

3.2.1.3. Factores de Inclusión

- Vacas entre 0 y 45 días post parto (dpp).
- Vacas primíparas y multíparas.
- Vacas de la raza Holstein.

3.2.1.4. Factores de Exclusión

- Vacas con signos de enfermedad
- Vacas de más de 45 días postparto

3.2.2. Métodos de evaluación

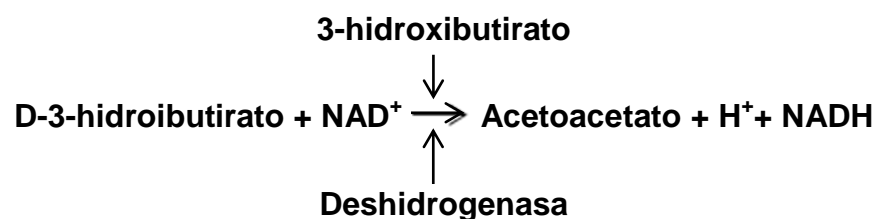
3.2.2.1. Metodología analítica:

Determinación de β -hidroxibutirato en sangre:

METODO UV (ultra Violeta)

Se utilizó el método cinético enzimático para medir el nivel de D-3-hidroxibutirato en suero o plasma. El método se basa en la oxidación de D-3-hidroxibutirato a acetoacetato por acción de la enzima 3-hidroxibutirato deshidrogenasa. Concomitante con esta oxidación, el cofactor NAD se reduce a NADH y el cambio de absorbancia asociado está en relación directa con la concentración de D-3-hidroxibutirato. (Randox, 2010a)

Principio



MUESTRA

Suero, plasma heparinizado o EDTA plasma.

Composición del reactivo

Componentes		Concentraciones iniciales de las Soluciones
R I a.	Tampón	
	Tampón tris	100 mmol/l, pH 8,5
	EDTA	2 mmol/l
	Acido oxálico	20 mmol/l
R I b.	Enzima/Coenzima	
	NAD ⁺	2,5 mmol/l
	3-HBDH	0,12 U/ml
CAL	Patrón	
	D-3-hidroxibutirato	

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

R1a. Tampón

Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se conserva entre +2 y +8°C.

R1b. Enzima/Coenzima

RB 1007 10 x 10 ml

Se reconstituyó el contenido de un vial de Enzima/ Coenzima R1b con 10 ml de Tampón R1a. Estable durante 24 horas entre +15 y +25°C ó 7 días entre +2 y +8°C.

CAL Patrón (1 mmol/l)

Listo para su uso. Estable hasta la fecha de caducidad cuando se

conserva entre +2 y +8°C. (Randox, 2010b)

Para uso manual

longitud de onda:	340 nm (Hg 334 nm o Hg 365 nm)
cubeta:	1 cm de espesor
Temperatura:	37°C
Medición:	Frente a reactivo blanco

Pipetear en tubos de ensayo:

	Micro		Semimicro	
	Patrón o Muestra	Reactivo Blanco	Patrón o muestra	Reactivo Blanco
Patrón	75 µl	---	25 µl	---
Muestra	---	75 µl	---	25 µl
Agua destilada	3,00 ml	3,00 ml	1,00	1,00 ml
Reactivo				

Utilizo el sistema semimicro, mezclando é incubando durante 30 seg a 37°C y midiendo posteriormente la absorbancia en un analizador bioquímico semiautomático, EMP 168-Vet. ©. Se leyó de nuevo la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min. Se determinó la variación de absorbancia media por min. (ΔA) y se utilizó para los cálculos. (Randox, 2010c)

Cálculos

$$\frac{\Delta A_{\text{muestra}}}{\Delta A_{\text{patrón}}} \times \text{Conc. De patrón}$$

LINEALIDAD

El método es lineal entre concentraciones de 0,1 a 3.2 mmol/l. Las muestras con concentraciones superiores deberán diluirse 1+2 con agua destilada. El resultado deberá multiplicarse por 3. (Randox, 2010d)

SENSIBILIDAD

La mínima concentración detectable con un nivel de precisión aceptable de la D-3-Hidroxiacetato se determinó en 0,100 mmol/l. (Randox, 2010e)

3.2.2.2. Metodología de la experimentación

- Las muestras de sangre obtenidas de la vena caudal de cada vaca, fueron sometidas a la centrifuga, para obtener el suero sanguíneo de cada muestra.
- Culminado el paso anterior se procede a la preparación del reactivo, reconstituyéndolo (mezclando un vial de enzima/coenzima R1b con 10 ml de Tampón R1a.
- Ahora toca hacer la preparación del reactivo blanco el cual se obtuvo de la mezcla de 25 ul de agua destilada con 1 ml del reactivo preparado, el cual se incubo a 37°C por 30 segundos , luego fue llevado a realizar su lectura al fotocolorímetro.
- Terminado el paso anterior, se tuvo que realizar el mismo procedimiento, solo que ahora se utilizó suero sanguíneo con el reactivo, para cada una de las muestras.
- Los resultados encontrados se compararon con los siguientes parámetros de evaluación de BHB en sangre, donde se encontró que el nivel; normal <1.2 mmol/L, cetosis clínica >2.9 mmol/L y cetosis Subclínica de 1.2 a 2.9 mmol/L.

3.2.2.3. Recopilación de la información

- En campo: La información se obtuvo mediante la toma de muestra

sanguínea y la realización del test Randox.

- En biblioteca: recopilación de datos para la elaboración del marco conceptual.
- En otros lugares: Internet.

3.3. VARIABLES DE RESPUESTA

3.3.1. Variables independientes

- Número de parto.
- Nivel productivo.
- Días en lactación

3.3.2. Variables dependientes

- Niveles de β -hidroxibutirato en (mmol/L) según
 - Número de parto (Primíparas y Multíparas)
 - Nivel de producción (Alta, Media, Baja)
 - Días en lactación (0-15, 16-30 y 31-45)
- Prevalencia de cetosis clínica (%).
- Prevalencia de cetosis subclínica (%).

3.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

3.4.1. Diseño experimental

3.4.1.1. Unidades experimentales

Dado el carácter del estudio, cada vaca muestreada constituyó una unidad experimental.

3.4.1.2. Análisis Estadísticos

Se utilizó una prueba de t para comparar los niveles de β -hidroxibutirato según número de parto (primíparas y multíparas) a un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

$$t_0 = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{s_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Para establecer las diferencias según número de parto y días en lactación se utilizó un análisis de varianza en un diseño de bloques completos al azar donde los tratamientos fueron los días en lactación (0-15,16-30 y 31-45) y los bloques el número de parto (primíparas y multíparas).

El modelo lineal usado fue el siguiente

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

para $i = 1, 2, \dots, a$; $j = 1, 2, \dots, b$

Dónde:

y_{ij} :es la observación relativa al i-ésimo tratamiento del j-ésimo bloque.

μ : es la gran media

τ_i : es el efecto del i-ésimo tratamiento.

β_j : es el efecto del j-ésimo bloque.

ε_{ij} : es el error aleatorio correspondiente a la observación y_{ij}

Las diferencias estadísticamente significativas se establecieron a un valor de $p < 0.05$ y las altamente significativas a un valor de $p < 0.01$. (Zegarra, 2012)

3.4.1.3. Análisis de Significancia

Para la comparación y separación de promedios, se aplicó la prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) (Calzada, 1970).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Validación por fotocolorimetría de la técnica de determinación de β -hidroxibutirato (BHBA) en muestras de suero sanguíneo.

El procedimiento de validación consistió en la evaluación del protocolo Ranbut (Randox,UK) como método analítico para la determinación de BHBA en muestras de suero sanguíneo, en un total de 10 muestras aleatorias de vacas en postparto temprano. Se determinó los valores promedio, rango, desviación estándar y otros de estadística descriptiva (Cuadro N° 1) y se compararon con los valores reportados en la bibliografía y con el manual del kit, evaluando la sensibilidad y linealidad de los valores reportados.

Cuadro N° 1.
Prueba de validación del kit de D-3 hidroxibutirato (Ranbut) mmol/L

<i>Prueba de validación</i>	
Media	0.35
Error típico	0.09
Mediana	0.25
Moda	0.10
Desviación estándar	0.28
Varianza de la muestra	0.08
Curtosis	4.08
Coefficiente de asimetría	1.87
Rango	0.93
Mínimo	0.10
Máximo	1.03

Se encontró un promedio de 0.35 ± 0.28 mmol/L de BHBA con una mediana

de 0.25 y una moda de 0.10 mmol/L. La curtosis fue de 4.08 y el coeficiente de asimetría de 1.87. Del mismo modo se encontró un rango que vario desde 0.10 mmol/L hasta 1.03 mmol/L como máximo. En términos generales los valores encontrados estuvieron dentro del rango reportado por la bibliografía (Wittwer, 2012) aunque se observó una alta variabilidad individual en los animales evaluados.

4.2. Evaluación de los niveles de β -hidroxibutirato en vacas lecheras post parto de alta producción

4.2.1. Comparación de los niveles de β -hidroxibutirato según número de parto y días en lactación

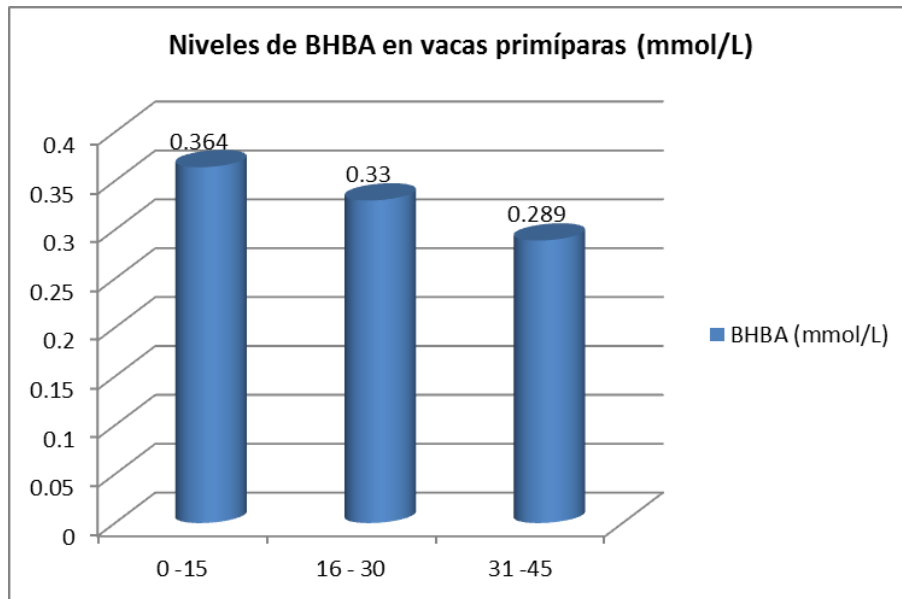
Se compararon los niveles de BHBA entre vacas multíparas y primíparas a los 0-15, 16-30 y 31-45 días postparto cuyos resultados de muestran en el Cuadro N° 2

Cuadro N° 2.
Comparación de los niveles de β -hidroxibutirato (mmol/L) según número de parto y días en lactación

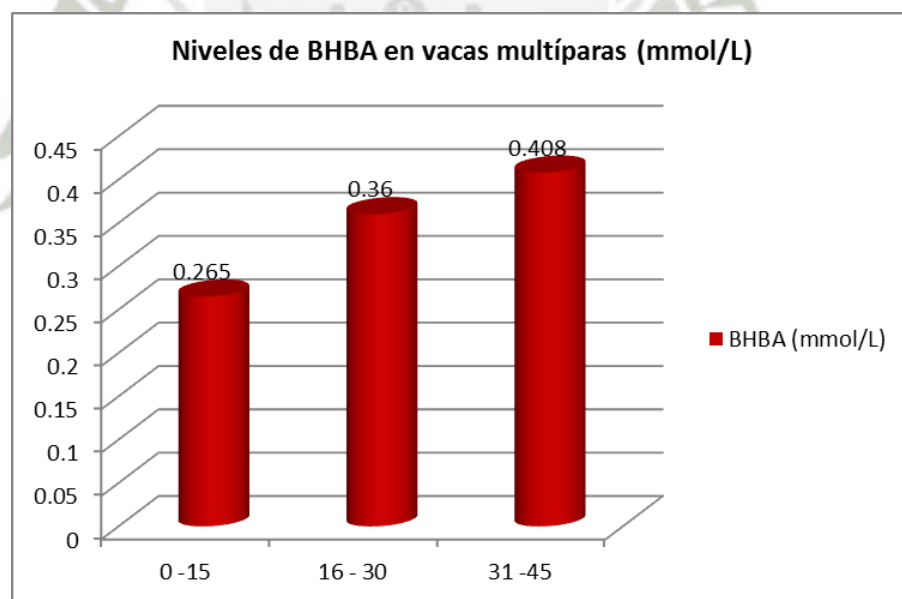
	0-15	16-30	31-45	Promedio
Primíparas	0.364	0.330	0.289	0.328^a
Multíparas	0.265	0.360	0.408	0.344^a
Promedio	0.314^a	0.345^a	0.348^a	

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente $p > 0.05$

Se encontró que en el grupo de vacas primíparas, hubo una disminución en los niveles de BHBA desde los 0-15 días hasta los 31-45 días postparto aunque a la comparación por medio de un análisis de varianza no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los días en lactación.



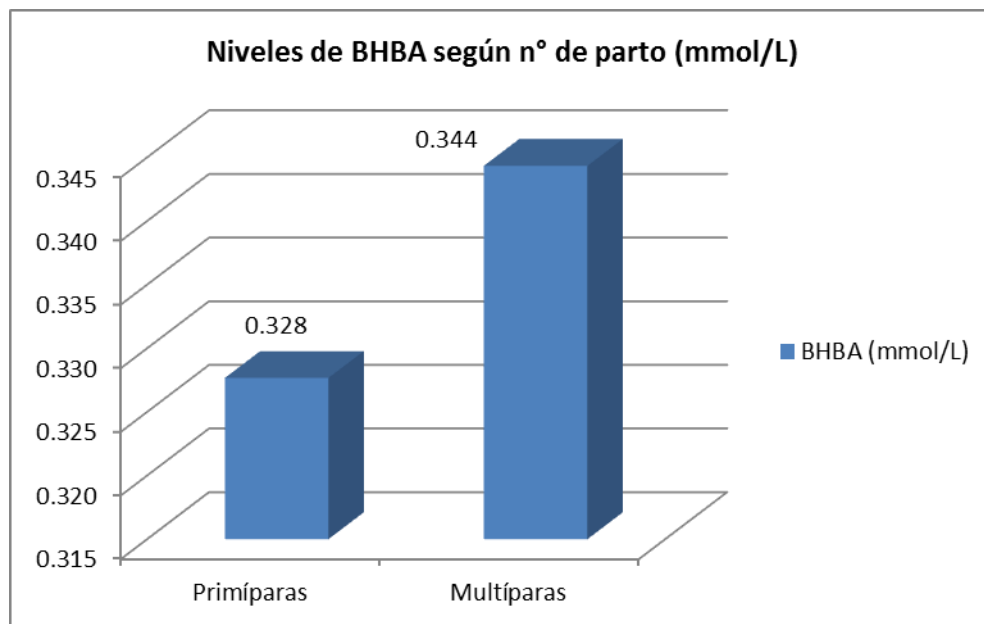
Se encontró que en el grupo de vacas multíparas, hubo un incremento en los niveles de BHBA desde los 0-15 días hasta los 31-45 días postparto aunque a la comparación por medio de un análisis de varianza, no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los mismos.



En cuanto al número de parto (paridad) hubo un ligera diferencia en los niveles de BHBA entre vacas primíparas (0.328 mmol/L) y multíparas (0.344 mmol/L), aunque la misma tampoco fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Todo esto se debe, a que existe un buen balance nutritivo de la ración,

destinada a cada grupo, de acuerdo a su necesidad fisiológica y de producción.



Céspedes (2013) en un estudio en vacas lecheras Holstein en las etapas de transición (7 dpp) y post parto temprano (20 dpp), utilizando un cetómetro electrónico en la Irrigación de Santa Rita de Sigwas, encontró niveles de BHBA de 1.79 a 2.34 mmol/L. Marroquín, 2013d, en un estudio similar pero en la Irrigación Yuramayo, usando la misma metodología, encontró valores de BHBA de 2.68 ± 1.70 mmol/L para el primer grupo (20 – 35 dpp), mientras que para el segundo grupo (36 – 50 dpp) los niveles de BHBA fueron de 1.52 ± 1.17 mmol/L. En ambos casos los valores fueron superiores a los reportados en el presente estudio. Esta diferencia podría deberse a múltiples factores, dentro de los que se encuentran el manejo nutricional que es diferente en cada estable, el nivel de producción e inclusive el método utilizado para la medición de BHBA. Cucunubo, Strieder, Wittwer y Noro, (2013), en un estudio realizado en Valdivia, Chile reportó valores de 0.53 ± 0.33 mmol/L de BHBA en el 80.2 % de las muestras sanguíneas de vacas Holstein evaluadas entre la 3ra y 8va semanas post parto en una dieta en base a pastura y concentrado. Wittwer, (2012) reportó valores de 0.40 ± 0.1 mmol/L de BHBA en vacas lecheras de 3 semanas de lactancia, valor muy similar al encontrado en el presente estudio. En términos generales los

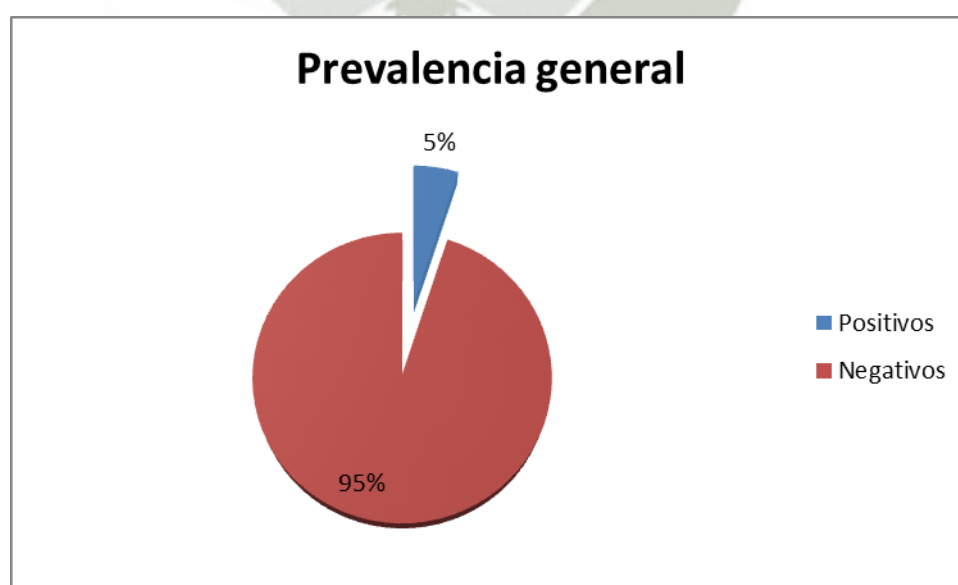
valores de BHBA son muy dependientes de la dieta y la disponibilidad de carbohidratos fermentables para la producción de energía a nivel ruminal, es por ello que en raciones adecuadamente balanceadas y acordes con los requerimientos nutricionales es de esperar que los valores de BHBA se encuentren en los límites inferiores o mínimos, como parece haber sido el caso del presente establo bajo estudio.

4.3. Determinar la prevalencia de cetosis clínica y subclínica según los niveles de β -hidroxibutirato encontrados en vacas lecheras post parto de alta producción

Se establecieron los valores límite o puntos de corte para clasificar los casos de cetosis clínica, subclínica y normales según Oetzel, (2012) quien menciona los siguientes parámetros según los niveles de β Hidroxibutirato en sangre: cetosis clínica (>2.9 mmol/L), cetosis subclínica (1.0 – 2.9 mmol/L) y normal (< 1.0 mmol/L), estableciéndose la prevalencia según el Cuadro 3.

Cuadro Nº 3.
Prevalencia general de cetosis

Positivos	%	Negativos	%	Total
3	5.0	57	95.0	60



Del mismo modo se estableció, bajo el mismo criterio la prevalencia de cetosis clínica y subclínica. (Cuadro 4)

Cuadro Nº 4.
Prevalencia de cetosis clínica y subclínica

Clínica	%	Subclínica	%	Negativos	%
0	0.0	3	5.0	57	95.0



Se encontró en términos generales una baja prevalencia de cetosis subclínica (5%) y nula de cetosis clínica durante el periodo en estudio, lo cual se evidenció también por la ausencia de casos de cetosis con sintomatología clínica evidente.

Algunos autores consideran cetosis subclínica cuando las concentraciones sanguíneas de BHBA superan los 1,2 o 1,4 mmol/L (Roussel et al, 1982; Geishauser et al. 2001; Carrier et al, 2004; Duffield et al, 2004; Oetzel, 2012; 2007). Así mismo se han reportado frecuencias de presentación de cetosis subclínica tan amplias como 3,7% (Drackley, 1999), 8,9 - 34% (Duffield y col, 2004) y 43% (Geishauser et al, 2001), lo cual refleja la alta variabilidad entre establos y sistemas productivos como causa de diferentes porcentajes de

prevalencia de esta enfermedad metabólica.

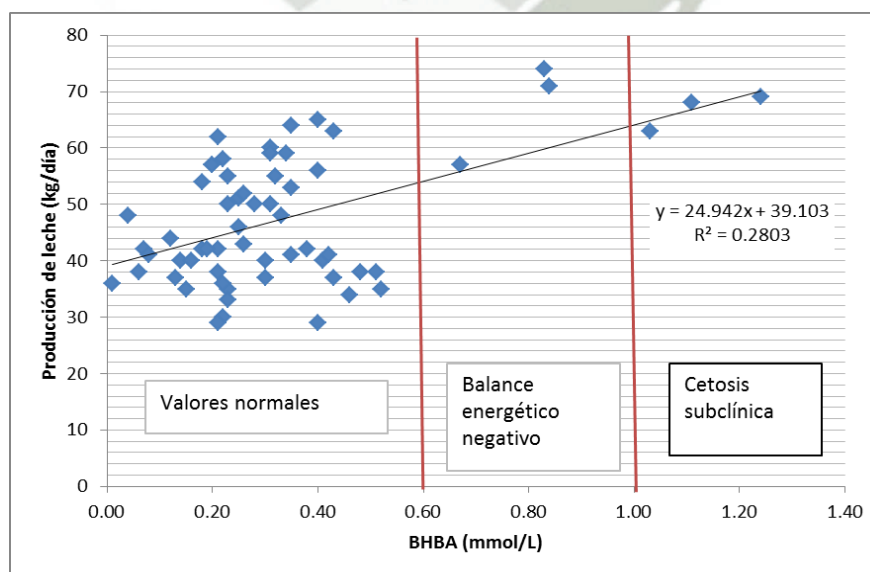
Las razones fundamentales por las cuales se presentaron estos resultados son el buen balanceo del alimento, de acuerdo a la necesidad nutritiva de cada grupo, la presencia de este 5% de cetosis subclínica serían por casos aislados (competencia por el alimento, patología, etc.).

4.4. Determinación de la eficacia de la técnica de medición de β -hidroxibutirato en sangre para el diagnóstico de cetosis bovina.

Se evaluó la eficacia de la técnica de medición de β -hidroxibutirato en sangre mediante un análisis de regresión entre los valores de BHBA de cada animal evaluado y su respectiva producción de leche registrada el día de muestreo de sangre, encontrándose una tendencia lineal que refleja que a mayor producción de leche los valores de BHBA se incrementan también, pero observándose que existe una gran dispersión de los datos ($r^2=0.28$) para valores inferiores a 0.6 mmol/L considerados como normales, y con escasos valores superiores a 0.6 pero inferiores a 1.0 mmol/L, considerados como en balance energético negativo (Wittwer, 2012) y finalmente con solo 3 valores superiores a 1.0 mmol/L considerados como cetosis subclínica. (Oetzel, 2012). Gráfico N°

Gráfico N° 1.

Eficacia de la técnica de β -hidroxibutirato en sangre para detectar casos de cetosis clínica, subclínica y balance energético negativo



Se realizó también un análisis de varianza para evaluar los niveles de producción de leche de los animales seleccionados según paridad o número de partos y los días de lactación, encontrándose que hubo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) en producción de leche entre vacas primíparas y multíparas (39.4 vs 51.9 lts/v/día) pero no hubo diferencias estadísticas significativas entre días en lactación ($p > 0.05$) y tampoco hubo interacción significativa entre la paridad y los días en lactación ($p > 0.05$).

Estas diferencias entre el promedio de producción de leche, es porque las vacas primíparas no alcanzan un pico de lactación tan alto como las multíparas, esto se debe a que destinan mayor cantidad de nutrientes para su propio crecimiento a diferencia de las multíparas que la destinan a producción de leche.

Cuadro N° 5

Cuadro N° 5.
Comparación de los niveles de producción de leche (lts/v/día) según número de parto y días en lactación

	0-15 días	16-30 días	31-45 días	Promedio
Primíparas	38.2	37.9	42.2	39.4^a
Multíparas	49.5	55.4	50.9	51.9^b
Promedio	43.8^a	46.6^a	46.5^a	

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente $p > 0.05$

V. CONCLUSIONES

- Se realizó una prueba de validación de la técnica de determinación de β -hidroxibutirato (BHBA) en muestras de suero sanguíneo por fotolorimetría, obteniéndose un promedio de 0.35 ± 0.28 mmol/L de BHBA con una mediana de 0.25 y una moda de 0.10 mmol/L. La curtosis fue de 4.08 y el coeficiente de asimetría de 1.87. Del mismo modo se encontró un rango que vario desde 0.10 mmol/L hasta 1.03 mmol/L como máximo, los valores encontrados estuvieron dentro del rango reportado por la bibliografía.
- Se encontró que en el grupo de vacas primíparas, hubo una disminución en los niveles de BHBA desde los 0-15 días hasta los 31-45 días postparto aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$), mientras que en el grupo de vacas múltíparas, hubo un incremento en los niveles de BHBA desde los 0-15 días hasta los 31-45 días postparto aunque, tampoco hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los mismos.
- En cuanto al número de parto (paridad) hubo un ligera diferencia en los niveles de BHBA entre vacas primíparas (0.32 mmol/L) y múltíparas (0.34 mmol/L), aunque la misma tampoco fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).
- Se encontró una baja prevalencia de cetosis subclínica (5%) y nula de cetosis clínica durante el periodo en estudio.
- Se encontró una tendencia lineal que refleja que a mayor producción de leche los valores de BHBA se incrementan también, con una gran dispersión de los datos ($r^2 = 0.28$) para valores inferiores a 0.6 mmol/L considerados como normales, con escasos valores superiores a 0.6 pero inferiores a 1.0 mmol/L, considerados como en balance energético negativo y finalmente con solo 3 valores superiores a 1.0 mmol/L considerados como cetosis subclínica.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la evaluación y calibración periódica de la técnica de fotolorimetría enzimática para determinar BHBA en sangre.
- Se recomienda monitorear periódicamente los valores de BHBA sanguíneo en vacas durante los primeras 3 a 6 semanas post parto para identificar casos de cetosis subclínica tempranamente
- Se recomienda evaluar otros metabolitos sanguíneos como los ácidos grasos no esterificados conjuntamente con BHBA para aumentar la especificidad de la evaluación.
- Se recomienda utilizar la técnica fotolorimétrica de BHBA sanguíneo por demostrar una muy buena eficacia en la detección de problemas de cetosis clínica y subclínica en vacas lecheras en lactancia de alta producción



VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1) **Aguilar, A. (2012).** Perfil metabólico energético en ganado lechero. Cuenca-Ecuador.
- 2) **Andresen, H. (2001).** Manual de Ganadería Lechera y Enfermedades del Bovino. Peruláctea 2001. La Vaca en Transición. FMV – UNMSM.
- 3) **Aquino, J.; y Zegarra, F. (2009).** Bioquímica II. Boletín de Clases
- 4) **Armentano, (1994).** Departamento de Ciencia de Ganado Lechero. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, Universidad de Wisconsin-Madison.
- 5) **Bech, (1995).** Evaluación del estado corporal en vacas lecheras.
- 6) **Berg, J.; Tymoczko, J.; Stryer, L. (2008).** Bioquímica.
- 7) **Brockman, R.P y Loorveld, B. 1986.** Hormonal Regulation Of Metabolism In Ruminants.
- 8) **Calzada, J. (1970).** Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Jurídica. Lima-Perú
- 9) **Caraguay, M. (2012).** Diagnóstico de mastitis subclínica por el método california mastitis test, aislamiento, identificación y sensibilidad del germen en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.
- 10) **Céspedes, J. (2011).** Presentación de alteraciones metabólicas-nutricionales en rebaños lecheros pastoriles de cinco macrozonas en el sur de Chile. Tesis presentada para optar al Grado de Magíster en Ciencias, Mención Producción Animal. U. Austral Chile
- 11) **Céspedes, J. (2013)** Evaluación de los niveles de cetonas utilizando el cetómetro electrónico, en vacas lecheras Holstein en la etapa de transición y post parto. Fundo América, Irrigación de Santa Rita de Sigwas, Arequipa 2013. Tesis para optar el grado de Médico Veterinario y Zootecnista. UCSM Arequipa.
- 12) **Cucunubo, L.; Strieder, C.; Witwer, F.; Noro, M. (2013).** Diagnóstico de cetosis subclínica en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXIII, N° 2, 111 – 119.
- 13) **Delgado, A.; Muroya, C.; y Olivos, W. (2012).** La Alimentación de las Vacas Lecheras, enfoques y recomendaciones.

- 14) **Dirksen, Gründer, y Stüber. (2005).** Medicina Interna y Cirugía del Bovino. Editorial Intermedica. Bs As, Argentina.
- 15) **Duffield, T. 2004.** Importance of Subclinical Ketosis in Lactating Dairy Cattle. Proc. MichiganVet. Conf.
- 16) **Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE. (2009).** Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. J. Dairy Sci. 92:571–580.
- 17) **Emery, R.S., H.D. Hafs, D.Armstrong, y W.W.Snyder.1969.** Prepartum grain feeding effects on milk production, mammary edema, and incidence of diseases. J.DairySci.52:345– 351
- 18) **García, J.; y Gingins, M. (1969).** Anatomía y fisiología del aparato digestivo de los rumiantes. Conferencia en Dpto. Zootecnia, Facultad de Agronomía y Veterinaria, UBA.
- 19) **Geishauser,T.; Leslie K. ; Kelton D. y Duffield. (2001).** Monitoring Subclinical Ketosis In Dairy Herds.
- 20) **Herdt, T.H y Emery, R.S (1992)** Therapy Of Diseases Of Ruminant Intermediary Metabolism.
- 21) **Howard W. T. (2006).** Departamento de Ciencia de Ganado Lechero.
- 22) **Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL. (2006).** Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. Vet. Immunol. Immunopath. 113:21-29.
- 23) **Lean,I.J, Bruss,M.L, Baldwin,R.L y Trout,H.L, (1992)** Bovine Ketosis A Review Biochemistry And Prevention.
- 24) **LeBlanc, S. J., K. E. Leslie, and T. F. Duffield, (2005).** Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. J. Dairy Sci. 88, 159–170
- 25) **Marroquín, R. (2013).** Evaluación de Cuerpos Cetónicos utilizando métodos electrónicos en vacas lecheras Holstein post parto según la Condición Corporal y Nivel Productivo, Arequipa 2013. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Católica de Santa Maria.

- 26) **Murray, R.; Bender, D.; Botham, K.; Kennelly, P.; Rodwell, V.; Weil, P. (2009).** Harper. Bioquímica ilustrada.
- 27) **Marteniuk.J.W, Herdt.T.H, (1988).**Prencnacy Toxemia And Ketosis Of Cows And Does.
- 28) **Oetzel, G. (2012).** Understanding the impact of subclinical ketosis. En: Proceedings 2012 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers.74th Meeting October 16 18, 2012Doubletree Hotel East Syracuse, New York.
- 29) **Overton, T. R. y M. R. Waldron, (2004).** Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. J. dairy Sci. 87:105-119
- 30) **Radox (2010)** Manual Ranbut RB 1007 D3-Hidroxibutirato. UK
- 31) **Radostits, O. M.; Gay, C. C.; Blood, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. (2002).** Medicina Veterinaria.
- 32) **Salinas, L. (2011).** Validación de un método analítico para la cuantificación de β -Hidroxibutirato en leche cruda Bovina, Valdivia-Chile.
- 33) **Suriyasathaporn W, Heuer C, Noordhuizen-Stassen EN et al. (2000)** Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. Vet Res 31(4), 397-412.
- 34) **Wittwer, F. (2012)** Manual de patología clínica veterinaria. 2da Edición. Imprenta América. Valdivia. Chile
- 35) **Zegarra, J. (2012)** Diseños Experimentales II en Veterinaria. Diapositivas y Apuntes de clase.



ANEXO Nº 1

MULTIPARAS DE: 0 -15 DIAS					
Nº	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
1	3177	7	7	5	0.34
2	5785	7	3	6	0.33
3	5796	7	3	11	0.35
4	6133	7	2	15	0.18
5	6186	7	2	13	0.31
6	6539	7	2	9	0.22
7	6744	7	2	11	0.35
8	6844	4	2	12	0.20
9	7004	4	2	4	0.30
10	6649	7	2	15	0.07
MULTIPARAS DE: 16 - 30 DIAS					
	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
11	3724	7	5	24	0.67
12	5748	7	3	25	0.43
13	6245	7	2	24	0.20
14	6592	7	2	25	0.84
15	6642	7	2	18	0.35
16	6887	8	2	26	0.14
17	6911	8	2	30	0.13
18	6973	7	2	18	0.32
19	4932	8	4	29	0.31
20	5623	7	3	16	0.21
MULTIPARAS DE: 31 - 45 DIAS					
	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
21	4453	8	4	42	0.22
22	5277	8	3	35	0.40
23	6027	8	2	31	0.83
24	6599	8	2	33	0.25
25	6730	8	2	38	0.28
26	6820	8	2	45	0.40
27	4039	8	5	37	0.21
28	6014	8	3	31	0.26
29	6578	8	2	44	1.11
30	6914	8	2	33	0.12

PRIMIPARAS DE: 0 -15 DIAS					
	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
31	7688	7	1	6	0.51
32	7696	7	1	13	0.30
33	7786	7	1	13	0.38
34	7792	7	1	14	0.23
35	7807	7	1	8	0.48
36	7944	7	1	14	0.46
37	7973	7	1	11	0.41
38	8008	4	1	12	0.23
39	8017	4	1	12	0.43
40	8131	4	1	4	0.21
PRIMIPARAS DE: 16 - 30 DIAS					
	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
41	7803	8	1	29	0.04
42	7820	7	1	20	0.40
43	7880	7	1	16	0.42
44	7927	7	1	25	0.01
45	8015	7	1	17	0.18
46	8025	7	1	21	0.23
47	8031	7	1	21	0.52
48	8052	7	1	18	0.26
49	8065	7	1	18	0.21
50	8090	8	1	29	1.03
PRIMIPARAS DE: 31 -45 DIAS					
	ID	CORRAL	LACTACION	DIAS EN LACTACION	RESULTADO TEST
51	7780	8	1	43	0.19
52	7868	8	1	43	0.23
53	7884	8	1	36	0.16
54	7996	8	1	37	0.31
55	7824	8	1	38	0.08
56	7827	8	1	34	0.15
57	7831	8	1	41	0.06
58	7927	8	1	34	0.22
59	7998	8	1	37	0.25
60	8027	8	1	31	1.24

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo				
	Primíparas	Múltiparas		BHBA (mmol/L)
RESUMEN	0 -15	16 - 30	31 -45	Total
Cuenta	10	10	10	30
Suma	3.64	3.3	2.89	9.83
Promedio	0.364	0.33	0.289	0.328
Varianza	0.012715556	0.086377778	0.117387778	0.068156437
<hr/>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	2.65	3.6	4.08	10.33
Promedio	0.265	0.36	0.408	0.344
Varianza	0.008783333	0.053888889	0.099084444	0.053852989
<hr/>				
<i>Total</i>				
Cuenta	20	20	20	
Suma	6.29	6.9	6.97	
Promedio	0.3145	0.345	0.3485	
Varianza	0.012762895	0.066678947	0.106266053	

ANÁLISIS DE VARIANZA						
VARIABLES	SSCC	GL	CM	F	Probabilidad	Valor crítico para F
numero de parto	0.004166667	1	0.004166667	0.066095989	NS 0.7980	4.01954096
días de lactacion	0.01399	2	0.006995	0.110961946	NS 0.8951	3.168245967
Interacción	0.120143333	2	0.060071667	0.952919093	NS 0.3920	3.168245967
Dentro del grupo	3.40414	54	0.06303963			
Total	3.54244	59				

MULTIPARAS DE: 0 -15 DIAS				
N°	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
1	3177	7	7	59
2	5785	7	3	48
3	5796	7	3	64
4	6133	7	2	54
5	6186	7	2	60
6	6539	7	2	30
7	6744	7	2	41
8	6844	4	2	57
9	7004	4	2	40
10	6649	7	2	42
MULTIPARAS DE: 16 - 30 DIAS				
	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
11	3724	7	5	57
12	5748	7	3	63
13	6245	7	2	57
14	6592	7	2	71
15	6642	7	2	53
16	6887	8	2	40
17	6911	8	2	37
18	6973	7	2	55
19	4932	8	4	59
20	5623	7	3	62
MULTIPARAS DE: 31 - 45 DIAS				
	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
21	4453	8	4	58
22	5277	8	3	65
23	6027	8	2	45
24	6599	8	2	51
25	6730	8	2	50
26	6820	8	2	56
27	4039	8	5	38
28	6014	8	3	52
29	6578	8	2	50
30	6914	8	2	44

PRIMIPARAS DE 0 - 15 DIAS				
	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
31	7688	7	1	27
32	7696	7	1	37
33	7786	7	1	42
34	7792	7	1	50
35	7807	7	1	38
36	7944	7	1	34
37	7973	7	1	40
38	8008	4	1	35
39	8017	4	1	37
40	8131	4	1	42
PRIMIPARAS DE: 16 - 30 DIAS				
	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
41	7803	8	1	48
42	7820	7	1	29
43	7880	7	1	41
44	7927	7	1	36
45	8015	7	1	42
46	8025	7	1	33
47	8031	7	1	35
48	8052	7	1	43
49	8065	7	1	29
50	8090	8	1	43
PRIMIPARAS DE: 31 -45 DIAS				
	ID	CORRAL	LACTACION	PRODUCCION
51	7780	8	1	42
52	7868	8	1	55
53	7884	8	1	40
54	7996	8	1	50
55	7824	8	1	41
56	7827	8	1	35
57	7831	8	1	38
58	7927	8	1	36
59	7998	8	1	46
60	8027	8	1	39

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

RESUMEN	0 -15	16 - 30	31 -45	Total
Cuenta	10	10	10	30
Suma	382	379	422	1183
Promedio	38.2	37.9	42.2	39.43
Varianza	36.4	41.66	40.4	40.74
<hr/>				
Cuenta	10	10	10	30
Suma	495	554	509	1558
Promedio	49.5	55.4	50.9	51.93
Varianza	120.9444444	104.9333333	58.54444444	94.82
<hr/>				
<i>Total</i>				
Cuenta	20	20	20	
Suma	877	933	931	
Promedio	43.85	46.65	46.55	
Varianza	108.1342105	150.0289474	66.78684211	

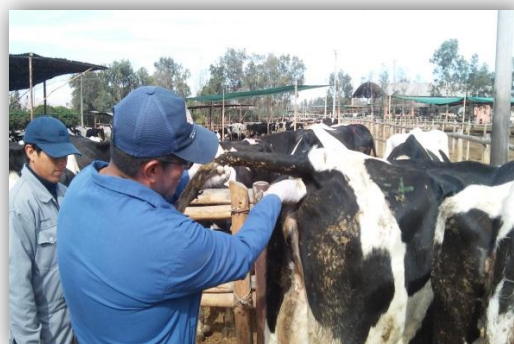
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>SSC</i>	<i>GL</i>	<i>Cme</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Paridad	2343.75	1	2343.75	34.905	2.394E-07	4.020
Días postparto	100.93	2	50.47	0.752	0.4765	3.168
Interacción	204.40	2	102.20	1.522	0.2275	3.168
Dentro del grupo	3625.90	54	67.15			
Total	6274.98	59				

ANEXO 2

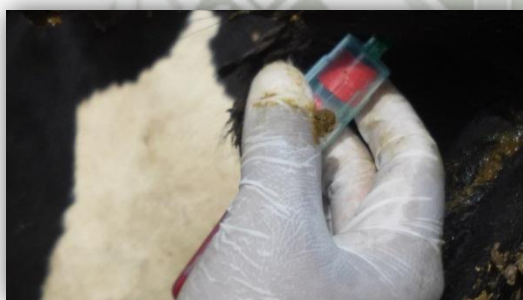
SECUENCIA FOTOGRAFICA



FOTOGRAFIA N°1: Limpieza de la zona muestreo.



FOTOGRAFIA N°2: Extracción de muestra de sangre.



FOTOGRAFIA N°3: Muestra de sangre extraída.



FOTOGRAFIA N°4: Muestras sometidas a centrifuga.



FOTOGRAFIA N°5: Kit de diagnóstico utilizado.



FOTOGRAFIA N°6: Lectura de las muestras procesadas.



Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Sr(es.)

Jorge Gonzalo Callo Flores
Arequipa



Resultados B-hidroxibutirato en suero sanguíneo (mmol/L)

Nº	ID	RESULTADO TEST
31	7688	0.51
32	7696	0.30
33	7786	0.38
34	7792	0.23
35	7807	0.48
36	7944	0.46
37	7973	0.41
38	8008	0.23
39	8017	0.43
40	8131	0.21
41	7803	0.04
42	7820	0.40
43	7880	0.42
44	7927	0.01
45	8015	0.18
46	8025	0.23
47	8031	0.52
48	8052	0.26
49	8065	0.21
50	8090	1.03
51	7780	0.19
52	7868	0.23
53	7884	0.16
54	7996	0.31
55	7824	0.08
56	7827	0.15
57	7831	0.06
58	7927	0.22
59	7998	0.25
60	8027	1.24

Arequipa, 10 de octubre del 2015

Método fotocolorimétrico Ranbut BHBA

LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL - UCSM P.P. MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Teléfono: 054-251210 Anexo 1186 Celular: 959670257 RPM: #098422

lnaaweb@ucsm.edu.pe





Sr(es.)

Jorge Gonzalo Callo Flores
Arequipa

Resultados B-hidroxitirato en suero sanguíneo (mmol/L)

Nº	ID	RESULTADO TEST
31	7688	0.31
32	7696	0.30
33	7786	0.38
34	7792	0.23
35	7807	0.48
36	7944	0.46
37	7973	0.41
38	8008	0.23
39	8017	0.43
40	8131	0.21
41	7803	0.04
42	7820	0.40
43	7880	0.42
44	7927	0.01
45	8015	0.18
46	8025	0.23
47	8031	0.32
48	8052	0.26
49	8065	0.21
50	8090	1.03
51	7780	0.19
52	7868	0.23
53	7884	0.16
54	7996	0.31
55	7824	0.08
56	7827	0.15
57	7831	0.06
58	7927	0.22
59	7998	0.25
60	8027	1.24

Arequipa, 10 de octubre del 2015

Método fotolorimétrico Ranbut BHBA

LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL - UCSM P.P. MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Teléfono: 054-251210 Anexo 1186 Celular: 959670257 RPM: #098422

inservet@ucsm.edu.pe



JORGE L. CALLO FLORES
Médico Veterinario
Médico