

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS EN
SUERO DE VACAS LECHERAS (*BOS TAURUS*) DE ALTA PRODUCCIÓN -
AREQUIPA 2022**

Tesis presentada por el bachiller:

Ñaupá Cutipa, Paul Anthony

Para optar el Título Profesional de:

Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

Mgter. Zegarra Paredes, Jorge Luis

Arequipa, Perú

2023

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 19 de Junio del 2023

Dictamen: 006777-C-EPMVZ-2023

Visto el borrador del expediente 006777, presentado por:

2017246981 - ÑAUPA CUTIPA PAUL ANTHONY

Titulado:

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS EN SUERO DE VACAS
LECHERAS (BOS TAURUS) DE ALTA PRODUCCIÓN - AREQUIPA 2022**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**29616421 - OBANDO SANCHEZ ALEXANDER DANIEL
DICTAMINADOR**



**29688868 - REATEGUI ORDOÑEZ JUAN EDUARDO
DICTAMINADOR**



**29327492 - VALDEZ NUÑEZ VERONICA ROCIO
DICTAMINADOR**



EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS EN SUERO DE VACAS LECHERAS (BOS TAURUS) DE ALTA PRODUCCIÓN - AREQUIPA 2022

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Católica de Santa María

Trabajo del estudiante

3%

2

bdigital.unal.edu.co

Fuente de Internet

2%

3

tesis.ucsm.edu.pe

Fuente de Internet

2%

4

sedici.unlp.edu.ar

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

DEDICATORIAS

Se la ofrezco con mucho cariño a mi madre que en todo momento estuvo presente para mi en las buenas y en las malas, que siempre me supo comprender y llenar de amor.

A mi padre por ser uno de los primeros en apoyarme en estudiar la carrera que tanto me gusta y siempre confiar en mis decisiones.

A mi hermana que siempre supo sacarme una sonrisa en momentos de estrés, con la que compartí tantos buenos momentos

A Roger Postigo que siempre me dio ánimos en todo y a toda su familia que siempre me recibió con los brazos abiertos.

A Mis amigas Valeria, Roxana, Doris, Karla y Melissa por haberme acompañado siempre todo este largo trayecto y hacer de esta época una de las mejores de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero dar las gracias a la Universidad Católica de Santa María por haberme proporcionado una formación profesional de alta calidad. También quiero dar las gracias a mis profesores, que me han acompañado durante los últimos cinco años y han contribuido a formar mi ética profesional y a prepararme para los retos a los que me enfrentaré en el lugar de trabajo.

Por darme la oportunidad de aprovechar sus conocimientos científicos y su experiencia investigadora, así como por el tiempo que dedicó a orientarme, Jorge Luis Zegarra Paredes, a quien considero un gran ejemplo como profesional y como persona, me prestó una gran y crucial ayuda en el desarrollo de la tesis.

A mis jurados; Dr. Juan Eduardo Reátegui Ordoñez y Dra. Verónica Valdez Nuñez por su tiempo y guía al evaluar este proyecto como jurados de este trabajo de tesis.

Al Dr. Erick Díaz Málaga por facilitarme todos los recursos en el estable Agrícola Pampa Baja Los Rosales durante todo el tiempo que recolecté muestras para esta tesis.

A la empresa Agrícola Pampa Baja por haber permitido usar sus instalaciones, así como animales para la culminación de este trabajo de tesis.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar los niveles normales de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en vacas lecheras Holstein de Arequipa de alto rendimiento entre 21 días antes del parto y 21 días después del parto. Las vacas se dividieron en dos grupos, primíparas y múltiparas, en función de su número de lactaciones. El primer y segundo grupo se dividieron en dos subgrupos temporales cada uno; el primero entre 21 y 0 días antes del parto y se seleccionaron las 10 vacas para cada grupo utilizando el método de muestreo aleatorio básico, y se obtuvieron muestras de sangre de la vena coccígea, se centrifugaron y se extrajo el suero sanguíneo en tubos eppendorf. Se utilizaron pruebas enzimáticas de punto final para determinar las cantidades de ácidos grasos no esterificados en este suero sanguíneo. Para el primer grupo de vacas múltiparas, los niveles medios de ácidos grasos no esterificados resultaron ser de 0,66 mmol/L (21 a 0 días antes del parto), 0,51 mmol/L (0 a 21 días después del parto), y 0,76 mmol/L (21 a 0 días antes del parto), 0,69 mmol/L (0 a 21 días después del parto) para el segundo grupo de vacas primíparas. Se demostró que, en comparación con las vacas múltiparas, las primíparas presentaban una mayor cantidad de ácidos grasos no esterificados. Al evaluar los resultados no se descubrió una correlación estadística significativa entre las vacas primíparas y las múltiparas, ni entre los periodos posparto y preparto ($p > 0,05$). El balance energético negativo osciló entre el 40% de 21 a 0 días antes del parto y el 15% de 0 a 21 días después del parto del total de muestras analizadas. El nivel de ácidos grasos no esterificados en la leche de las vacas evaluadas mostró una fuerte correlación estadística ($r = 0,8$), lo que indica que cuanto mayor sea la producción de leche, mayor será el nivel de ácidos grasos no esterificados. Esto puede deberse a que una elevada producción de leche tiene unas necesidades energéticas elevadas.

Palabras clave: Ácidos grasos no esterificados (AGNE), Producción de leche, Balance energético negativo (BEN)

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the normal levels of non-esterified fatty acids (NEFA) in high-yielding Arequipa Holstein dairy cows between 21 days before calving and 21 days after calving. The cows were divided into two groups, primiparous and multiparous, according to their number of lactations. The first and second groups were divided into two temporal subgroups each; the first between 21 and 0 days before calving and the 10 cows were selected for each group using the basic random sampling method, and blood samples were obtained from the coccygeal vein, centrifuged and blood serum was extracted into eppendorf tubes. Enzymatic end-point tests were used to determine the amounts of nonesterified fatty acids in this blood serum. For the first group of multiparous cows, the mean levels of nonesterified fatty acids were found to be 0.66 mmol/L (21 to 0 days before calving), 0.51 mmol/L (0 to 21 days after calving), and 0.76 mmol/L (21 to 0 days before calving), 0.69 mmol/L (0 to 21 days after calving) for the second group of primiparous cows. It was shown that, compared to multiparous cows, primiparous cows had a higher amount of nonesterified fatty acids. When evaluating the results, no significant statistical correlation was found between primiparous and multiparous cows, nor between the postpartum and prepartum periods ($p>0.05$). The negative energy balance ranged from 40% from 21 to 0 days before calving to 15% from 0 to 21 days after calving of the total samples analyzed. The level of non-esterified fatty acids in the milk of the cows evaluated showed a strong statistical correlation ($r=0.8$), indicating that the higher the milk production, the higher the level of non-esterified fatty acids. This may be due to the fact that high milk production has high energy requirements.

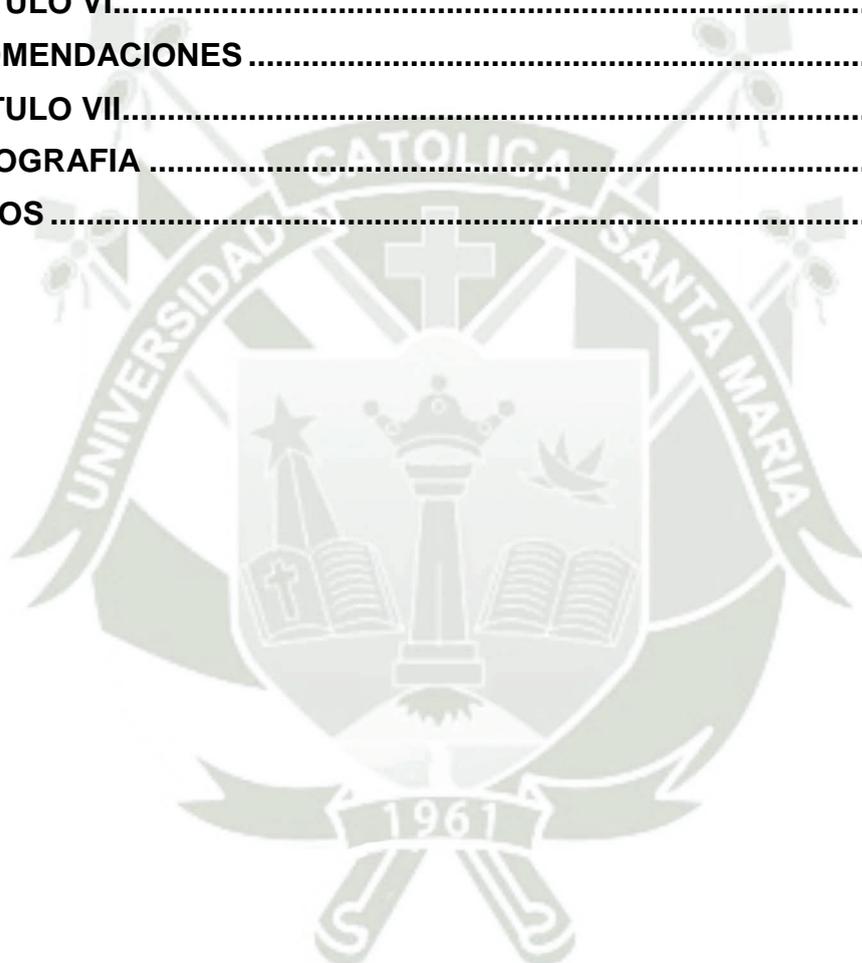
Key words: Non-esterified fatty acids (NEFFA), Milk production, Negative energy balance (NEB).

INDICES

DEDICATORIAS	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT.....	IV
INDICES.....	V
CAPITULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.	2
1.1. Enunciado del Problema	2
1.2. Descripción del problema	2
1.3. Justificación del trabajo.	2
1.3.1. Aspecto general	2
1.3.2. Aspecto tecnológico	2
1.3.3. Aspecto social.	3
1.3.4. Aspecto económico.....	3
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. Objetivo general.....	3
1.4.2. Objetivos específicos	3
1.5. Hipótesis	4
CAPITULO. II.....	5
MARCO TEORICO.	6
2.1. Análisis bibliográfico	6
2.1.1. La raza Holstein:	6
2.1.2. Clasificación taxonómica del bovino.	6
2.1.3. Alimentación en bovinos:	7
2.1.4. Requerimientos de la alimentación bovina	7
2.1.3.1. Energía	7
2.1.3.2. Proteína	8
2.1.3.3. Minerales	8
2.2. Antecedentes de investigación.....	19
2.2.1. Análisis de tesis.....	19
2.2.2. Análisis de trabajos de investigación.....	20
CAPITULO III.....	25
MATERIALES Y METODOS.....	26

3.1. Materiales.....	26
3.1.1. Localización del trabajo	26
3.1.1.1. Espacial.....	26
3.1.1.2. Temporal	26
3.1.2. Materiales biológicos	26
3.1.3. Materiales usados de laboratorio	26
3.1.4. Materiales de campo	26
3.1.5. Equipos y maquinarias.....	27
3.1.6. Otros materiales	27
3.2. Métodos	27
4.1.1. Muestreo.....	27
4.1.1.1. Universo:.....	27
4.1.1.2. Tamaño de muestra:	27
4.1.1.3. Procedimiento de muestreo	28
4.1.2. Métodos de evaluación	28
4.1.2.1. Metodología de la experimentación.....	28
4.1.2.2. Recopilación de la información.....	29
a) Obtenida en el campo.....	29
b) En el laboratorio.....	29
c) En la biblioteca.....	29
d) Obtenida en otros ambientes productores de información científica.....	29
3.3. Variables de respuesta:	30
3.3.1. Variables independientes.....	30
3.3.2. Variables dependientes.....	30
3.4. Evaluación estadística.....	31
3.4.1. Diseño Experimental	31
3.4.1.1. Unidades experimentales	31
3.4.1.2. Análisis estadístico	31
3.4.1.3. Análisis de significancia.....	31
3.4.1.4. Análisis de varianza (ANOVA).....	32
CAPITULO IV.....	33
RESULTADOS Y DISCUSION	34
4.1. Resultados.....	34
4.1.1. Diagnosticar un balance energético negativo midiendo la cantidad de ácidos grasos no esterificados.....	34

4.1.2. Frecuencia de balance energético negativo:.....	36
4.1.3. Comparación de los niveles de producción de leche (lts/día) según número de parto y días en lactación	38
4.1.4. Coeficiente de correlación entre nivel de ácidos grasos no esterificados y producción de leche	38
4.2. Discusión	39
CAPITULO V.....	42
CONCLUSIONES	43
CAPITULO VI.....	44
RECOMENDACIONES	45
CAPITULO VII.....	46
BIBLIOGRAFIA	47
ANEXOS	50





CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Enunciado del Problema.

Evaluar los niveles normales de ácidos grasos no esterificados en suero de vacas lecheras (bos taurus) con elevada producción de leche en Arequipa en el año 2022

1.2. Descripción del Problema.

El balance energético negativo es el principal responsable de muchas enfermedades metabólicas que ocurren en el peri parto, este balance energético negativo es directamente proporcional a los ácidos grasos no esterificados, por lo tanto, se podría tomar a los ácidos grasos no esterificados como indicador del balance energético, sin embargo, el nivel normal de ácidos grasos no esterificados (AGNEs) en bovinos durante el periparto es desconocido su nivel local inclusive nivel nacional

1.3. Justificación del Trabajo.

1.3.1. Aspecto General

La presentación de un nuevo método de diagnóstico del balance energético negativo a nivel local que nos ayudara a prevenir enfermedades provocadas por el balance energético negativo, además de determinar cuál es el nivel de ácidos grasos no esterificados en el ganado local y si estos se considerarían normales.

1.3.2. Aspecto Tecnológico

Además de determinar los niveles normales de ácidos grasos no esterificados como indicador de un balance energético negativo, la medición de los ácidos grasos no esterificados en vacas lecheras es un nuevo indicador metabólico cuyos valores no se han comunicado a nivel nacional.

1.3.3. Aspecto Social.

Al determinar el nivel de AGNE sirve de apoyo a los ganaderos evitándoles pérdidas económicas ocasionadas por el problema postparto

1.3.4. Aspecto Económico.

Los problemas de balance energético negativo repercuten en la rentabilidad de los rebaños lecheros porque interfieren en la reproducción y la producción. La utilización de mediciones de ácidos grasos no esterificados para prevenir las enfermedades periparto podría ayudar a evitarlo.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General.

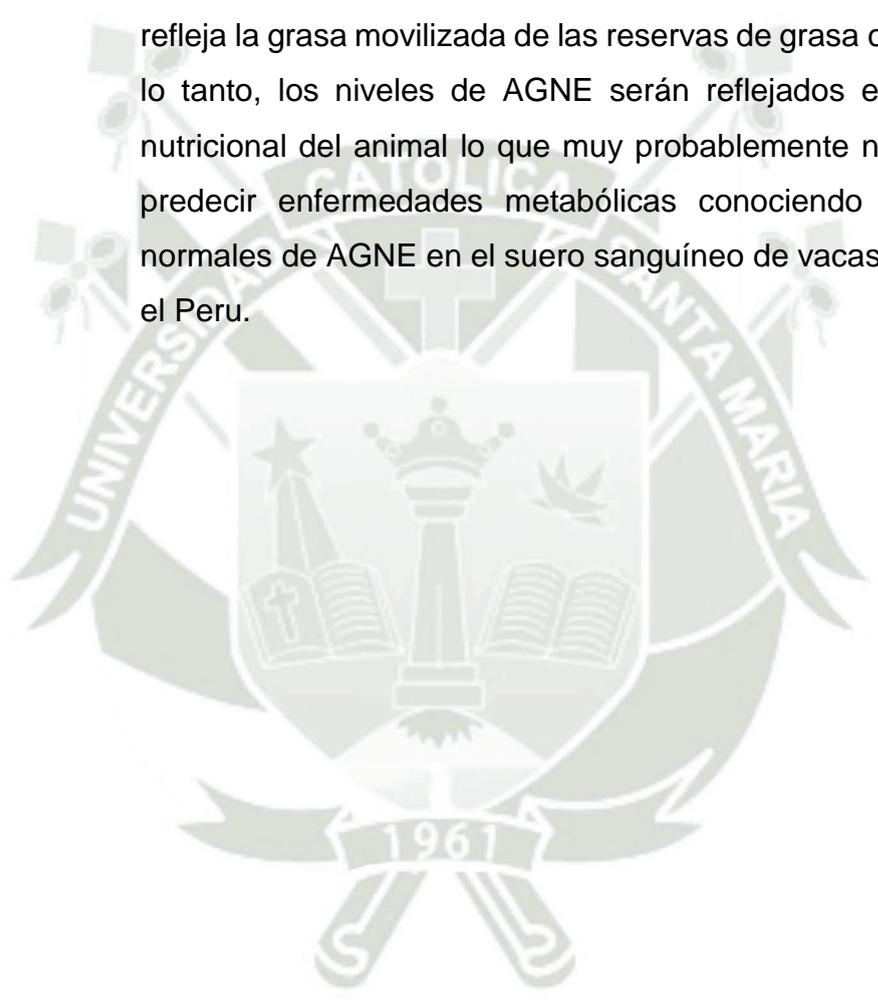
- Evaluar los niveles de ácidos grasos no esterificados en suero de vaquillonas y vacas (*Bos taurus*) considerando una alta producción en el periodo de postparto en Arequipa.

1.4.2. Objetivos Específicos.

- Establecer las diferencias comparativas de ácidos grasos no esterificados entre vaquillonas y vacas en las fases de postparto y preparto además de considerar si son multíparas o primíparas.
- Hallar la frecuencia de balance energético negativo de los animales muestreados tanto de primíparas como multíparas en el preparto (21 a 0 días) y postparto (0 a 21).
- Comprobar la asociación entre las concentraciones de ácidos grasos no esterificados en el suero de las vacas y aspectos como la producción de leche y la salud general de los animales.

1.5. Hipótesis

Dado que en la fase del parto se produce un balance energético negativo por un déficit energético, los animales descomponen los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo. Los ácidos grasos no esterificados resultantes (AGNE) ingresan al torrente sanguíneo para ser llevados a todo el cuerpo. Se ha demostrado que la concentración de AGNE medida en sangre refleja la grasa movilizada de las reservas de grasa corporal. Por lo tanto, los niveles de AGNE serán reflejados en el estado nutricional del animal lo que muy probablemente nos permitirá predecir enfermedades metabólicas conociendo los valores normales de AGNE en el suero sanguíneo de vacas Holstein en el Perú.





CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. Análisis Bibliográfico

2.1.1. La Raza Holstein:

Las hembras de la raza Holstein tienen marcas de color distintivas y producen mucha leche. Tienen patrones de color blanco y negro o rojo y blanco.

Un ternero Holstein sano nace con un peso mínimo de 41 kg. Una vaca Holstein madura tiene una altura a la cruz de 147,32 cm y pesa unos 580 kilos.

El primer parto de las hembras Holstein debe producirse entre los 24 y los 27 meses de edad. La vida productiva media de una Holstein es de seis años.

Las hembras de la raza Holstein son las que más leche producen en todo el mundo. Poseen una capacidad de producción inigualable, biológicamente ilimitada y genéticamente fundamentada. Los avances genéticos del 1% al 2% anual son totalmente plausibles.

Aunque se pueden estabular, también se pueden utilizar para el pastoreo. Pueden mantenerse todo el año estabulado, en pastos, en sistemas agrícolas mixtos o en ambos.

Cuando se sitúan en regiones agroecológicas difíciles, las Holstein son menos resistentes a las enfermedades y al calor que las razas autóctonas. Su respuesta a tales circunstancias es una reducción de la productividad.

Las vacas Holstein en celo paren terneros sanos que destacan por su rápido desarrollo, madurez precoz y facilidad de cuidado.

Tienen buen carácter, son fáciles de manejar y de estabular. Además, tienen mentalidad de rebaño, no son criaturas aisladas y son resistentes al estrés. (1)

2.1.2. Clasificación Taxonómica del Bovino.

Reino:	Animal.
Phylum:	Cordata.
Clase:	Mamalia – Mamíferos.
Familia:	Bovidae.
Género:	Bos taurus Ganado Bovino Domésticos.

(2)

2.1.3. Alimentación en Bovinos:

AL subestimarse la alimentación de un hato lechero se lleva a cabo bajos índices de factores de producción y reproducción, por esto es que la alimentación tiene un gran impacto en el hato lechero evidenciándose grandes deficiencias al momento de producción lechera.

El éxito de una estrategia de producción depende en gran medida de la alimentación del ganado vacuno. El pienso suele ser el insumo más caro. (3)

2.1.4. Requerimientos de la Alimentación bovina:

En los sistemas de crianza intensiva se tienen un alto requerimiento de nutrientes en una época determinada del año. Cada vitamina desempeña un papel específico en el metabolismo, la producción o el crecimiento. La composición química de los nutrientes o su función en el metabolismo sirven para definir las clases nutricionales. (4)

2.1.3.1. Energía

El nutriente que el ganado consume en mayor cantidad es la energía. A menudo representa la mayor parte de los gastos de alimentación. El ganado obtiene su energía principalmente de la celulosa y la hemicelulosa de los forrajes, así como de los almidones de los cereales. A pesar de tener un importante nivel energético, las grasas y los aceites suelen constituir una porción menor de la dieta. (5)

2.1.3.2. Proteína

Es una parte crucial del tejido conjuntivo, los músculos y el sistema neurológico. Está formada por largas cadenas de aminoácidos. Para el mantenimiento, el desarrollo, la lactancia y la reproducción, una dieta adecuada debe contener suficientes proteínas. Las proteínas se componen de porciones solubles e insolubles. Los microbios del rumen digieren la proteína soluble en el rumen. El sistema digestivo inferior recibe el paso intacto de la proteína insoluble del rumen. Esta proteína de paso se descompone parcialmente en el intestino delgado. (4)

2.1.3.3. Minerales

Los macrominerales son los que se necesitan en cantidades bastante grandes. La sal, el calcio, el fósforo, el magnesio y el potasio son algunos de ellos. El yodo, el cobre, el zinc, el azufre y el selenio son algunos de los micro minerales u oligoelementos que se necesitan en cantidades muy pequeñas. El tipo y la calidad del pienso influyen en el contenido de minerales. (5)

Cuadro 1) Algunos Síntomas de las Deficiencias de Minerales.

Fuente: OMAFRA,2021

Mineral	Síntomas de deficiencia
Calcio	<ul style="list-style-type: none"> • crecimiento deficiente • huesos de la pierna arqueados • huesos frágiles
Fosforoso	<ul style="list-style-type: none"> • crecimiento deficiente • deseo de madera, cabello, tierra

	<ul style="list-style-type: none"> • bajas tasas de concepción
Magnesio	<ul style="list-style-type: none"> • temblores musculares • tambaleo, convulsiones (tetania de la hierba)
Sal de sodio)	<ul style="list-style-type: none"> • crecimiento deficiente • masticar o lamer madera
Selenio	<ul style="list-style-type: none"> • debilidad, incapacidad para estar de pie

2.1.3.1. Vitaminas

Las vitaminas son sustancias biológicas que sólo necesitan una cantidad muy pequeña para ser eficaces. Las vitaminas A, D y E son especialmente importantes en la alimentación del ganado vacuno. Normalmente, se expresan en unidades internacionales (UI). El desarrollo, la reproducción y el mantenimiento normales requieren vitamina A. Para formar huesos correctamente, se necesita vitamina D. Tanto el selenio como la vitamina E son necesarios para el crecimiento sano del tejido muscular. **(6)**

2.1.3.2. Agua

Es crucial tener acceso a agua de alta calidad para su consumo in situ. La reducción del consumo de pienso y la disminución de la producción de leche son los resultados directos de un consumo insuficiente de agua. La cantidad de agua que necesitan las hembras de vacas lecheras influye en la cantidad de leche que producen. **(7)**

2.1.3.3. Uso de Grasas en la Alimentación:

Se ha establecido que añadir lípidos a las dietas las hace más apetecibles, pero hacerlo también tiene un impacto en la digestión ruminal e intestinal, ya que se sabe que aumentar el contenido de grasa en las dietas ricas en cereales de 0 a 2% reduce la digestibilidad de la materia seca entre un 3 y un 14%. **(8)**

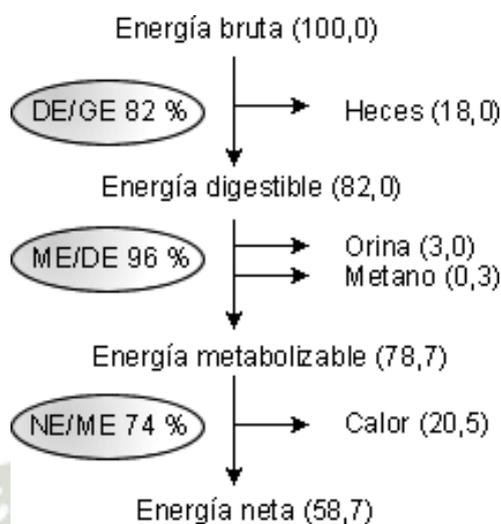
2.1.2. Metabolismo Energético

Digestibilidad: La porción de alimento que no se elimina en las heces está relacionada con la digestibilidad y, por esto, está disponible para que lo use la vaca. La digestibilidad no es una medida directa de energía, pero indica la calidad general del alimento.

La energía se expresa como energía digerible (ED), metabolizable (EM) o neta (EN) al considerar la pérdida de energía durante la digestión y el metabolismo a partir de la energía bruta (EB) en el alimento, de la siguiente manera

- Energía bruta (EB): la cantidad de energía total que tiene un alimento.
- Energía digerible (ED): el contenido energético de la dieta menos la energía expulsada en las heces.
- Energía metabolizable (EM): la energía de los alimentos menos la energía expulsada por la orina y las heces.
- Energía neta (EN): energía de los alimentos menos la energía perdida en las heces, la orina y la producción de calor durante la digestión y el metabolismo, o ganancia de calor. **(9)**

Gráfico N°01) Breve resumen del sistema de Energía



Neta

Fuente: Noblet et al 1994

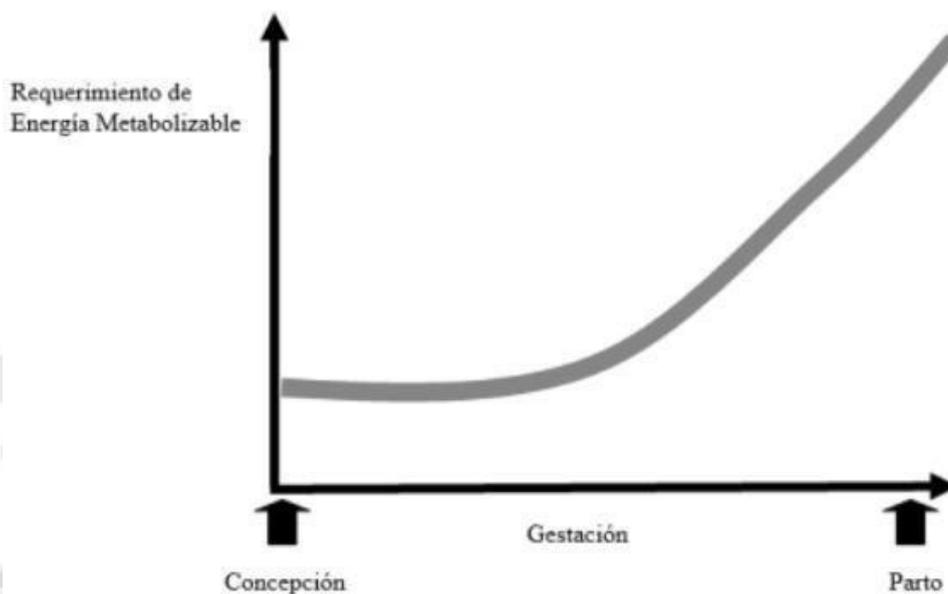
2.1.3. Energía Neta de Lactación (ENL):

Cantidad de energía de una comida que puede utilizarse para producir leche y mantener el organismo. En general, la cantidad de energía total de los piensos es comparable, pero la cantidad de energía total accesible para el mantenimiento y la producción de leche varía mucho. La energía restante en el grano se pierde por excreción en el exceso de calor de la vaca, la orina, los gases del rumen y las heces. **(10)**

2.1.4. Requerimientos de una Vaca en Gestación:

Los requerimientos fetales de energía y proteína se incrementan en la última fase de gestación (entre los 240-280 días de preñez). La falta de estos nutrientes se verá reflejada en el feto resultando menores pesos al nacimiento y al destete. **(6)**

Gráfico N°02) *Requerimientos Energéticos de Lactación.*

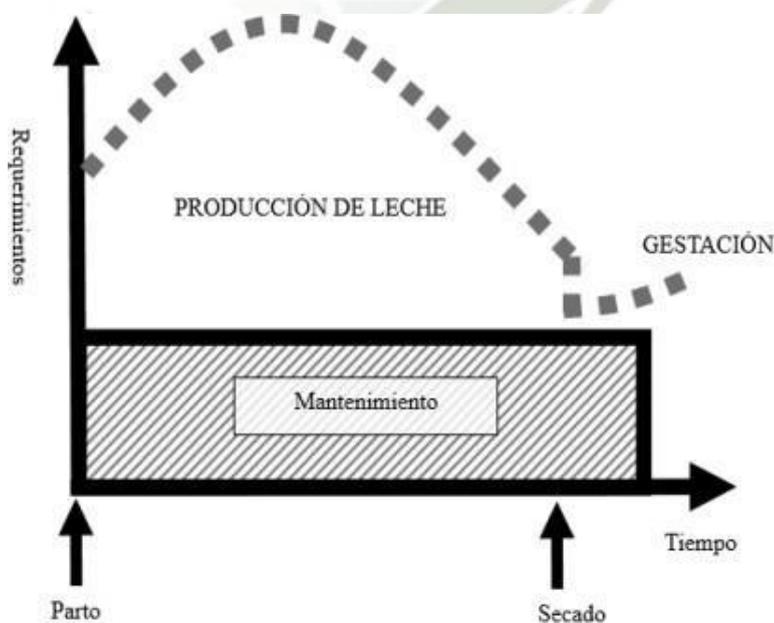


Fuente: adaptado al ARC (1980).

2.1.5. **Requerimientos de una Vaca en Lactación:**

Aunque los requerimientos de mantenimiento se mantienen durante todo el ciclo productivo anual los requerimientos totales de una vaca de alta producción pueden llegar hasta 5 veces los requerimientos de mantenimiento. **(6)**

Gráfico 3) Requerimientos de la vaca lechera a lo largo del ciclo reproductivo.



Fuente: adaptado al ARC (1980).

2.1.6. Balance Energético Negativo

Debido a que la ingesta energética durante el inicio de la lactación es insuficiente para satisfacer las demandas energéticas para la síntesis de leche, la mayoría de las hembras de vacuno lechero experimentan un balance energético negativo (BEN). El exceso de BEN puede provocar problemas de fertilidad y anomalías metabólicas. La detección del BEN al inicio de la lactación en las hembras es útil para optimizar el manejo del rebaño, sin embargo el cálculo directo del BEN no es práctico en los rebaños comerciales. **(11)**

El BEN es típico en las hembras de vacuno lechero durante las primeras semanas de lactación, ya que casi todas ellas superan el periparto sin dificultades. La baja ingesta de materia seca durante la gestación y el aumento de la demanda de energía para la producción de leche durante la lactancia en las hembras de vacuno lechero de alta producción (*Bos taurus*) provocan un BEN no compensado, que debe satisfacerse mediante la movilización de lípidos a partir de la octava semana postparto. **(12)**

2.1.7. Orígenes del Balance Energético Negativo:

Debido al crecimiento fetal y al inicio de la lactancia, todos los mamíferos, pero sobre todo las hembras de vacuno lechero de alta producción, experimentan un brusco aumento de las necesidades nutricionales al final de la gestación. Estas necesidades no pueden cubrirse totalmente con la ingesta de alimento, lo que provoca un déficit energético que la vaca intentará compensar utilizando sus reservas corporales, principalmente músculo y tejido adiposo. Por ello, durante el periodo de transición, la vaca es incapaz de equilibrar la cantidad de energía obtenida de la dieta y la cantidad de energía utilizada.

2.1.8. Estimación de Reservas Energéticas Corporales

Cabe resaltar que el peso vivo no ayuda para determinar las reservas energéticas ya que puede haber animales del mismo

peso, pero distinta conformación, este último si nos ayudara a determinar el grado de reserva corporal de manera sensorial y palpamiento utilizando una escala de 1 a 5 (donde 1 es demasiado delgada y 5 es obesa). Esto se debe medir al momento de secado, el ingreso al parto, el parto y el pico de producción **(13)**

2.1.9. **Problemas Asociados al Balance Energético Negativo:**

Un balance energético negativo en las hembras de vacuno lechero aumenta la probabilidad de cetosis subclínica o grave. Las hembras presentan una cetosis clínica muy evidente, pero esto es sólo el principio.

El movimiento de los almacenamientos de grasa corporal da como consecuencia una liberación de ácidos grasos no esterificados (AGNE). Cuando esta movilización es adecuada y bien regulada, estos NEFFA pueden metabolizarse completamente para cubrir las necesidades energéticas para la producción de leche. Si esta adaptación falla, se produce estrés metabólico. Esto aumenta la posibilidad de contraer algunas enfermedades metabólicas, como la fiebre puerperal y la cetosis subclínica o grave.

La fase de transición comprende desde las tres semanas previas al parto hasta las tres semanas posteriores al parto. Puede tener un gran impacto en el rendimiento reproductivo, además de la cantidad de leche producida. Esto aumenta la posibilidad de contraer algunas enfermedades metabólicas, como la fiebre puerperal y la cetosis subclínica o grave.

La probabilidad de que las vacas lecheras experimenten problemas reproductivos puede disminuirse reduciendo la duración y la intensidad del balance energético negativo durante la fase de transición. La fase de transición comprende desde las tres semanas previas al parto hasta las tres semanas posteriores al

parto. Puede tener un gran impacto en el rendimiento reproductivo, además de la cantidad de leche producida. **(14)**

Cuadro 2) Retraso de la Ovulación según la pérdida de condición corporal.

Fuente: Michigan State University Extension

pérdida de condición corporal	Primera ovulación después del parto
< 0,5 unidad	30 días
0,5 a 1,0 Unidad	36 días
>1,0 Unidad	50 días

2.1.10. Indicadores Metabólicos del Balance Energético Negativo

Para optimizar el manejo del rebaño, es útil detectar bovinos hembra en balance energético negativo al comienzo de la lactancia, pero el cálculo directo de balance energético negativo no es factible en hatos comerciales. Las técnicas alternativas se basan en la relación grasa-proteína de la leche o en los niveles de - hidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFFA) en sangre. **(11)**

Debido al mayor contenido calórico de la dieta, se ha producido un aumento de la ingesta voluntaria y, en consecuencia, del aporte energético. Esto ha provocado un aumento del peso corporal, una disminución de la movilización del tejido adiposo a medida que se acerca el parto y un descenso de las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados (NEFFA). Los cambios hormonales y el estrés del embarazo son en parte responsables del aumento de los NEFFA plasmáticos en torno al momento del parto. Se ha reconocido que el balance energético (BE) posparto es crucial para que las hembras lecheras de alta producción reanuden

sus ciclos ováricos regulares). Existe un fuerte vínculo entre AGNE y BE, y el grado de balance energético negativo (AGNE) en el periodo postparto temprano se ha relacionado tanto con la producción de leche como con el número de días hasta la primera ovulación. Mayores niveles de BEN y malnutrición son indicativos de mayores concentraciones de AGNE. **(15)**

2.1.11. EL uso de ácidos grasos no esterificados como un indicador de Balance Energético

Los ácidos grasos no esterificados (AGNE) son ahora el factor principal para determinar cuánta energía se consume. El nivel de descomposición del tejido adiposo (grasa) se refleja directamente en la concentración de AGNE. Una mayor probabilidad de cetosis, abomaso desplazado a la izquierda, y la mayoría de otras enfermedades periparto se predice por concentraciones anormalmente altas de NEFA resultantes de un balance energético negativo, ya sea antes o después del parto. **(16)**

Cuadro 3) Valores Séricos Sugeridos para Ácidos Grasos no Esterificados (NEFA) en la vaca lechera periparto.

Fuente: Pennstate extensión.

Metabolito sérico	Secado temprano	primer plano seco	vaca fresca
NEFA, mEq/L	< 0,325	<0,40	<= 0,6

2.1.12. β -hidroxibutirato como Indicador de Balance Energético

Uno de los cuerpos cetónicos, es otro parámetro útil para evaluar el estado energético. Sin embargo, BHB puede provenir de fuentes alimenticias (ensilaje pobremente fermentado) y no reflejar un metabolismo aberrante. Antes del parto, las concentraciones de BHB no predicen el riesgo de enfermedad, pero pueden ser elevadas si el animal tiene un balance energético negativo o consume ensilaje cetogénico. **(16)**

2.1.13. Concentración de glucosa como indicador de balance energético

No es un buen indicador del estado de energía. Sin embargo, las concentraciones de glucosa medidas junto con otras pruebas pueden proveer más información útil sobre los mecanismos profundos de la enfermedad.

2.1.14. Perfiles Metabólicos: Interpretación de Resultados

Para animales individuales, los valores de metabolitos se comparan con valores de referencia estándar dependientes del laboratorio. Estos valores de referencia generalmente representan un intervalo de confianza del 95%. Esto significa que el 95% de los animales normales deberían tener una concentración de metabolitos dentro de este rango. Esto también sugiere que el 5% de la población estará fuera de este rango de referencia y seguirá siendo normal, lo que enfatiza la necesidad de evaluar clínicamente al animal. Se ha demostrado que varios factores, sobre todo el estado fisiológico y la edad, influyen en las concentraciones de metabolitos en sangre.

(16)

Cuadro 4. Categorización de Los Metabolitos Sanguíneos en Relación con su Rango de Valores (Variabilidad) y Valor Diagnóstico.

Fuente: Pennstate extensión.

Baja variabilidad Alto valor de diagnóstico	Variabilidad moderada y valor diagnóstico	Alta variabilidad Bajo valor de diagnóstico
<ul style="list-style-type: none"> • Albúmina, proteína total • Calcio, Fósforo, Magnesio • Sodio, Cloruro, Potasio • NEFA 	<ul style="list-style-type: none"> • Colesterol • Glucosa • Cetonas 	<ul style="list-style-type: none"> • Creatin quinasa • Enzimas del hígado

2.1.15. Periodo de Transición

Es la transición que hace una vaca lechera hembra de un estado de gestación no lactante a un estado de gestación no lactante. Entre las tres semanas anteriores y las tres semanas posteriores al parto, hay una frecuencia significativa de enfermedades que incluyen fiebre de la leche, retención de placenta, metritis, cetosis, abomaso desplazado a la izquierda, cojera y mastitis clínica. (17)

2.1.16. Movilización de Lípidos Durante el Período de Transición de los Bovinos Hembra lecheras

El período de transición del ganado lechero se caracteriza por cambios drásticos en el metabolismo y los mecanismos de defensa del huésped que se asocian con un aumento de la enfermedad. Durante el periodo de transición, se produce una gran liberación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en el torrente sanguíneo como resultado de la intensa movilización de lípidos de las reservas tisulares. Aunque estos ácidos grasos son fuentes de energía cruciales durante los momentos de mayor demanda metabólica, se sabe que las concentraciones elevadas de AGNE perjudican una serie de procesos inmunológicos e inflamatorios.

El aumento de las concentraciones plasmáticas de AGNE es el resultado final del aumento de la lipólisis durante el periodo de transición. Para evaluar el grado de balance energético negativo (NEB) en hembras bovinas en transición, se utiliza como técnica de diagnóstico la cuantificación de los niveles plasmáticos de NEFA..
(18)

2.2. Antecedentes de Investigación

No se encontraron antecedentes de tesis o investigaciones a nivel local ni nacional

2.2.1. Análisis de Tesis

2.2.1.1 El Periparto en los Bovinos Hembra Lecheras: Balance Energético, Actividad Ovárica, Salud Uterina y Eficiencia Reproductiva. Tesis de Doctorado (19)

La evaluación de las relaciones entre determinados indicadores del balance energético, como los ácidos grasos no esterificados periparto y la reanudación de las ovulaciones posparto, y el riesgo de metritis fue uno de los principales objetivos de este trabajo de tesis. Desde dos semanas antes del parto hasta nueve semanas después del mismo, se examinó la condición corporal (CC), los metabolitos y las hormonas metabólicas de 20 hembras multíparas. La tasa de riesgo instantáneo de tener un reinicio de la ovulación postparto mostró una asociación inversa con los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA) postparto, y las que tuvieron un retraso en la ovulación presentaron una condición corporal más baja y mayores niveles de movilización de grasa durante el periparto. Se determinó que el riesgo de presentar metritis, es mayor en los bovinos hembra primíparas, en las que tienen problemas al parto y en las que poseen altos niveles de AGNE, además los niveles de ácidos grasos no esterificados en el preparto y de B-hidroxibutirato (BHB) en el postparto se pueden usar para predecir el riesgo de que presente endometritis clínica y metritis.
(19)

2.2.2.1 Ácidos Graxos não Esterificados (NEFAs) e beta-hidroxi-butirato (BHBA) na regulação da foliculogênese e epigenética das células endometriais. (20)

El balance energético negativo (BEN) durante el puerperio es un factor de riesgo para alteraciones reproductivas. Durante este período, aumentan los niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y beta-hidroxi-butirato (BHBA). Estos cambios se reflejan en el microambiente folicular y el endometrio bovino.

El trabajo se encargó de investigar la acción de los NEFA y BHBA sobre la foliculogénesis y el endometrio bovino para esto se utilizó una inyección intrafolicular con los tres principales AGNE (ácido oleico, esteárico y palmítico) afecta el desarrollo del folículo dominante, se concluyó que la inyección intrafolicular de AGNEs redujo el crecimiento folicular a las 24 y 48 h después del tratamiento, demostrando que altas concentraciones de AGNEs son perjudiciales para el desarrollo folicular. (20)

2.2.2. Análisis de Trabajos de Investigación

2.2.2.1. Evaluation of an early warning system for elevated β -hydroxybutyrate and non-esterified fatty acid values based on Fourier transform infrared spectra from routine milk samples. (21)

Utilizando datos de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier de muestras de leche normal, el estudio evaluó un sistema de alerta temprana para la identificación de cantidades elevadas de β -hidroxi-butirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFA). A partir de la prueba mensual de rendimiento de la leche de las Asociaciones Alemanas de Mejora del Rebaño Lechero, evaluamos el beneficio de un muestreo de leche más frecuente en la lactancia temprana para detectar bovinos hembra en riesgo de hipercetonemia y movilización exagerada de grasa. Para la validación del sistema de alerta

temprana, se obtuvieron muestras de leche y sangre como datos de referencia de bovinos hembra lecheras Holstein-Friesian (HF) y German Simmental (GS) en un ensayo de campo de un año. Para establecer un sistema de alerta temprana que utilice un modelo de predicción para los datos de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, se investigó el día preferible de lactancia y un intervalo de muestreo adecuado.

Los modelos de predicción basados en el método de selección completa del modelo del árbol de regresión, se validaron para detectar valores elevados de BHB y NEFA en datos FTIR de muestras de leche de rutina. Se compararon diferentes opciones de modelo en el árbol de regresión con respecto a su impacto significativo en el rendimiento de la predicción, medido con una precisión equilibrada.

El modelo de predicción elegido para cada metabolito se validó en el conjunto de datos de referencia como el estándar adecuado. El sistema de alerta temprana evaluado podría implementarse como un muestreo de leche adicional en los procesos rutinarios de la prueba de rendimiento lácteo de las Asociaciones Alemanas de Mejora del Rebaño Lechero. Por lo tanto, la detección de bovinos hembra en riesgo de hipercetonemia y movilización de grasa exagerada es determinada como valores elevados de BHB y NEFA, respectivamente, fue la razón de la validación de un sistema de alerta temprana que podría implementarse en procesos de rutina. Identificamos el período en la lactancia temprana, entre día en leche (DIM) 5 y 50, cuando la frecuencia está en su punto más alto. En particular, Los valores NEFFA mostraron que DIM 6-13 fue un período preferible para muestreo adicional.

2.2.2.2. **The Relationship of Excessive Energy Deficit with Milk Somatic Cell Score and Clinical Mastitis. (22)**

La investigación estudio la asociación del diagnóstico de la puntuación de células somáticas de la leche y el diagnóstico de mastitis clínica en vacas identificadas con déficit de energía excesiva, que fueron diagnosticadas mediante los niveles de: β -hidroxibutirato en sangre y leche, concentraciones de ácidos grasos no esterificados en suero sanguíneo y concentraciones de ácidos grasos de la leche. Se analizaron los datos recopilados de 396 vacas Holstein multíparas de 2 granjas de Nueva York en un estudio de cohorte prospectivo. La toma de muestras se realizó 2 veces por semana. La sangre se analizó mediante un medidor de mano, y la leche se analizó mediante espectrometría de infrarrojo medio para los niveles de β -hidroxibutirato, ácidos grasos no esterificados de la leche y el recuento de células somáticas. El déficit energético excesivo se diagnosticó como β -hidroxibutirato en sangre en niveles mayores a 1,2 mmol/L y en leche por niveles mayores a 0,14 mmol/L, en el caso de ácidos grasos no esterificados se diagnosticó positivo cuando supera o iguala los niveles de 0,55 mmol/L en leche. Para el diagnóstico de déficit excesivo de energía a través de ácidos grasos no esterificados, el promedio de conteo de células somáticas de la leche fue menor en paridad ≥ 4 , con una diferencia en el conteo de células somáticas medio entre los animales con déficit energético y los que no tienen déficit energético de 0,7 unidades de conteo de células somáticas. Aunque la relación entre déficit energético y mastitis clínica aún no está clara, los resultados de esta investigación nos indican que las vacas con déficit energético diagnosticadas con BHB en sangre o mediante ácidos grasos no esterificados durante los primeros 18 días de lactancia tienen una tendencia hacia un conteo de células somáticas más bajo en comparación con sus contrapartes sin déficit energético.

2.2.2.3. Prediction of blood metabolites from milk mid-infrared spectra in early-lactation cows (23)

La prueba del perfil metabólico sanguíneo es una herramienta válida para monitorear y detectar los trastornos de lactancia temprana más comunes, pero el muestreo y análisis de sangre consumen mucho tiempo y son costosos, el procedimiento es invasivo y estresante para los bovinos. La espectroscopia de infrarrojo medio se utiliza rutinariamente para analizar la composición de la leche, siendo un método rentable y no invasivo. El actual estudio tuvo como prioridad valorar la viabilidad del uso de espectros de espectroscopia de infrarrojo medio de leche en la rutina para la predicción de los principales metabolitos sanguíneos en vacas lecheras, e investigar las asociaciones entre los metabolitos sanguíneos medidos y los rasgos de la leche. Las concentraciones de los principales metabolitos sanguíneos y los espectros de espectroscopia de infrarrojo medio de la leche se registraron a partir de 295 muestras de suero sanguíneo y leche. Además, se utilizaron para desarrollar modelos de predicción de los rasgos metabólicos de la sangre a través del análisis de mínimos cuadrados parciales de intervalo hacia atrás.

El β -hidroxibutirato (BHB), la urea y los ácidos grasos no esterificados fueron los rasgos más predecibles, con coeficientes de determinación de 0.63, 0.58 y 0.52 respectivamente. La correlación positiva más fuerte se observó entre BHB y NEFA. Correlaciones moderadas a débiles de Transaminasa glutámica oxalacética con BHB (0,33; $P < 0,001$) y NEFA (0,28; $P < 0,01$). La lactosa se asoció moderadamente ($P < 0,001$) con NEFA (-0,31) y colesterol (0,26). Por lo tanto, los metabolitos sanguíneos predichos a través de los espectros MIR de la leche son una fuente importante de información rutinaria

sobre el estado metabólico de los bovinos hembra de lactancia temprana.





CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Localización del Trabajo

3.1.1.1. Espacial

La investigación se realizó en la empresa Agrícola Pampa Baja S.A.C., que se encuentra ubicada en el Kilometro 4.5 de la Carretera rumbo a Majes en el distrito de Majes, provincia de Caylloma, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa. De la ciudad de Arequipa dista alrededor de 100 kilómetros.

Ubicada a una altitud media de 1410 m.s.n.m.

Teniendo las siguientes coordenadas: 16°21'46"S 72°11'27"O El clima es fresco y seco al mediodía. La temperatura varía normalmente de 9 °C a 23 °C.

Con una humedad que varía entre los 60% y 90%.

Duración del día de aproximadamente 12 horas.

3.1.1.2. Temporal

El proceso de recogida y análisis de datos del presente estudio de investigación se desarrolló a lo largo de seis meses.

3.1.2. Materiales Biológicos

- Muestras de suero sanguíneo de vacuno
- Vacunos raza Holstein

3.1.3. Materiales Usados de Laboratorio

- Agua destilada.
- Tubos de Ensayo.
- Gradilla.
- tubos eppendorf 1.5 ml
- Pipetas Pasteur descartables

3.1.4. Materiales de Campo

- Algodón
- Alcohol
- Soga.

- Mameluco de trabajo.
- Botas de campo.
- Guantes descartables.
- Calculadora

3.1.5. Equipos y Maquinarias

- Celular
- Kit de NEFA
- Analizador bioquímico
- Calentador de baño maría
- Centrifuga

3.1.6. Otros Materiales

- Base de datos de Pampa Baja

3.2. Métodos

4.1.1. Muestreo

4.1.1.1. Universo:

Bovinos hembra en gestación que se encuentren a 21 días del parto entre primíparas y multíparas, de aproximadamente 100 bovinos hembra Holstein que cumplían las condiciones de: estar en fase de gestación, estar sanos y encontrándose cercanos a los -21 días postparto en el corral de investigación.

4.1.1.2. Tamaño de Muestra:

Se considero una selección de muestra del tamaño conveniente de 40 muestras que se obtendrán de 20 bovinos hembra **(16)**.

Las muestras serán tomadas en dos tiempos (T1: 21 días antes del parto, T2:21 días después del parto) mediante muestreo aleatorio de la población total de bovinos hembra que cuenten con las condiciones determinadas de cada grupo; Grupo 1 (G1): primíparas sanas con un tiempo de gestación de 21 días antes del parto y Grupo 2 (G2):

múltiparas sanas con un tiempo de gestación de 21 días antes del parto.

4.1.1.3. Procedimiento de Muestreo

Por muestreo aleatorio de 100 bovinos hembra Holstein que cumplían las condiciones de: estar en fase de gestación, estar sanos y encontrándose cercanos a los -21 días postparto en el corral de investigación.

4.1.2. Métodos de Evaluación

4.1.2.1. Metodología de la Experimentación

Se realizó el siguiente procedimiento:

- 1) Se recolecto una muestra de suero de sangre de cada una de las 20 hembras bovino seleccionados mediante muestreo aleatorio simple en vacas y vaquillonas preparto, ya que se pueden usar de 10 a 20 animales para obtener muestras significativas de ácidos grasos no esterificados. **(16)**.
- 2) Las muestras de sangre fueron procesadas en la centrifuga a 8000 revoluciones por minuto en 6 minutos, para extraer el suero sanguíneo y colocarlo en un tubo eppendor de 1.5 ml.
- 3) Se utilizó el método enzimático con fotocolorímetro para determinar el de ácidos grasos no esterificados en suero. El método se basa en la oxidación de la acil co-enzima A sintetasa (ACS) que formara la co-enzima A acilada, para formar peróxido de hidrogeno (H_2O_2), este reaccionara con la sustancia de trinder para formar un producto final coloreado. **(24)**.
- 4) Se analizo el nivel de AGNE mediante el kit de nefa y el analizador bioquímico, colocando 300 μ l del reactivo 1 con 100 μ l del reactivo 2 y 8 μ l de la muestra en un tubo de ensayo
- 5) Se dejo la muestra en baño maría con una temperatura de 37 °C durante 10 minutos.

- 6) acabando el tiempo se prosiguió con el uso del analizador bioquímico que succiona la muestra y calcula la absorbancia y el nivel de AGNE.
- 7) Se volvieron a tomar muestras a las mismas 20 vacas, pero ahora están en un periodo postparto, se analizaron las muestras siguiendo el mismo método de preparto.
- 8) Usar la prueba de t para comparar los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFFA) según número de parto que haya tenido (primíparas y múltiparas)
- 9) Usar la prueba de t pareada para comparar los 2 tiempos de las muestras obtenidos de cada una de los 20 bovinos hembra en su fase reproductiva (1 toma de muestra preparto y 1 toma de muestra postparto).

4.1.2.2. Recopilación de la Información

a) Obtenida en el Campo

Obtuvimos la ubicación de los bovinos hembra seleccionadas por muestreo aleatorio mediante los registros del establo y su muestra de sangre de cada una de ellas.

b) En el Laboratorio

Se realizó el Test enzimático para determinar el nivel de ácidos grasos no esterificados de cada muestra.

c) En la Biblioteca

Se analizaron investigaciones científicas y tesis previas para la recopilación de datos e información redactada en la realización del marco de información teórica.

d) Obtenida en Otros Ambientes Productores de Información Científica

Servidores de internet, base de datos de búsqueda científica para revisar artículos en varios idiomas

3.3. Variables de Respuesta:

3.3.1. Variables Independientes

- Número de partos.: primíparas y multíparas
- Días pre parto: de -21 a 0
- Días post parto: de 0 hasta + 21
- Producción láctea promedio.

3.3.2. Variables Dependientes

- Niveles de ácidos grasos no esterificados en (mmol/L)
- Frecuencia de balance energético negativo (%).

Cuadro 5) Organización de Variables

Variable	Tipo de Variable	Indicador	Unidad de Medida
Número de partos	Variable independiente	Número de partos	-
Días pre parto	Variable independiente	De 21 a 0 días antes del parto	Días
Días post parto	Variable independiente	De 0 a 21 días después del parto	Días
Producción de leche	Variable independiente	Producción láctea promedio	Litros/día
Niveles de ácidos grasos no esterificados	Variable dependiente	Nivel de AGNE en suero sanguíneo	mmol/Litro
Frecuencia de balance energético negativo	Variable dependiente	Porcentaje de vacas con balance energético negativo	%

3.4. Evaluación Estadística

3.4.1. Diseño Experimental

3.4.1.1. Unidades Experimentales

En este estudio se consideró a cada vaca muestreada como unidad experimental

3.4.1.2. Análisis Estadístico

En la primera fase parto:

En esta investigación, se empleó un umbral de significación igual a 0,05 en la prueba t para evaluar los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en relación con el número de partos (primíparas y múltiparas).

$$t_o = \frac{(X_1 - X_2)}{\sqrt{S_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

En la segunda fase: postparto

Para comparar los 2 resultados obtenidos de cada una de los 20 bovinos hembra en su fase reproductiva (1 toma de muestra parto y 1 toma de muestra postparto) se utilizó la prueba de t pareada:

$$t = \frac{x_{dif}}{(s_{dif} / \sqrt{n})}$$

dónde:

- x dif : media muestral de las diferencias
- s: desviación estándar muestral de las diferencias
- n: tamaño de muestra

3.4.1.3. Análisis de Significancia

Para comparar y separar medias, se aplicó la prueba de tuckey ($\alpha=0.05$) (25)



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Resultados

4.1.1. Diagnosticar un Balance Energético Negativo Midiendo la Cantidad de Ácidos Grasos no Esterificados.

Se utilizaron 20 unidades experimentales para llevar a cabo este estudio en dos periodos de tiempo (preparto, en el que lamuestra se tomó a los 21 días preparto, y posparto, en el que lamuestra se tomó a los 21 días posparto), utilizándose el periodo preparto porque es durante este periodo cuando se observa un mayor nivel de ácidos grasos no esterificados. Se dividió a las unidades experimentales según sus números de parto, primíparas para las que estarían en su primera gestación y multíparas para las que ya tuvieron más de una gestación.

Se recopilaron las muestras tomadas para la determinación de ácidos grasos no esterificados en suero sanguíneo usando un equipo fotométrico mediante un test enzimático con determinación de punto final, considerando como AGNE normal < 0.4 preparto y ≤ 0.6 en postparto. **(16)**

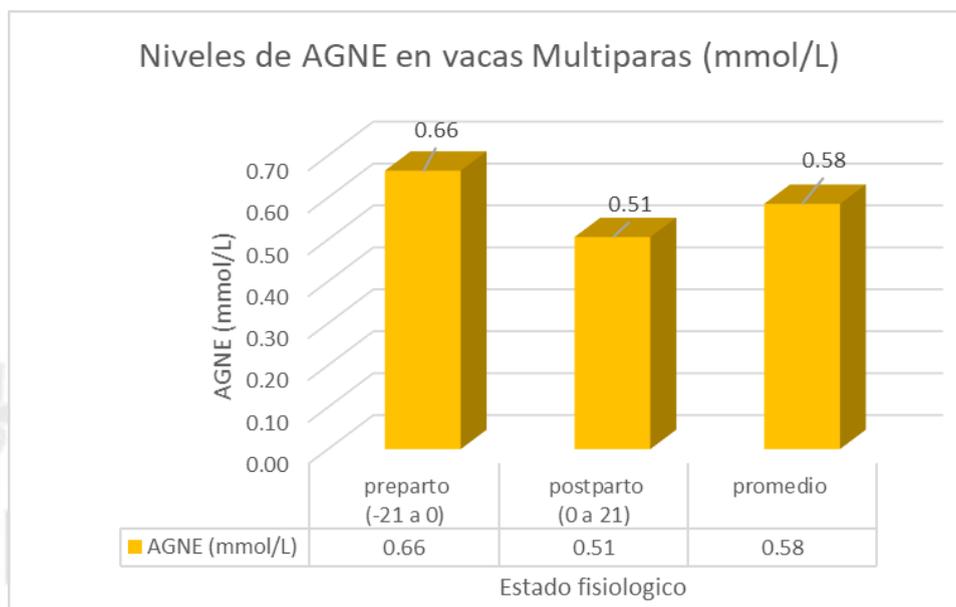
En el cuadro N° 6 se observan los valores obtenidos de ácidos grasos no esterificados en vacas primíparas y multíparas para comparar sus diferencias.

Cuadro N° 6) Niveles Promedio de NEFA según Días Postparto y Paridad

	Preparto (21 a 0)	Postparto (0 a 21)	Promedio
Multíparas	0.66	0.51	0.58
Primíparas	0.76	0.69	0.72
Promedio	0.71	0.60	0.65

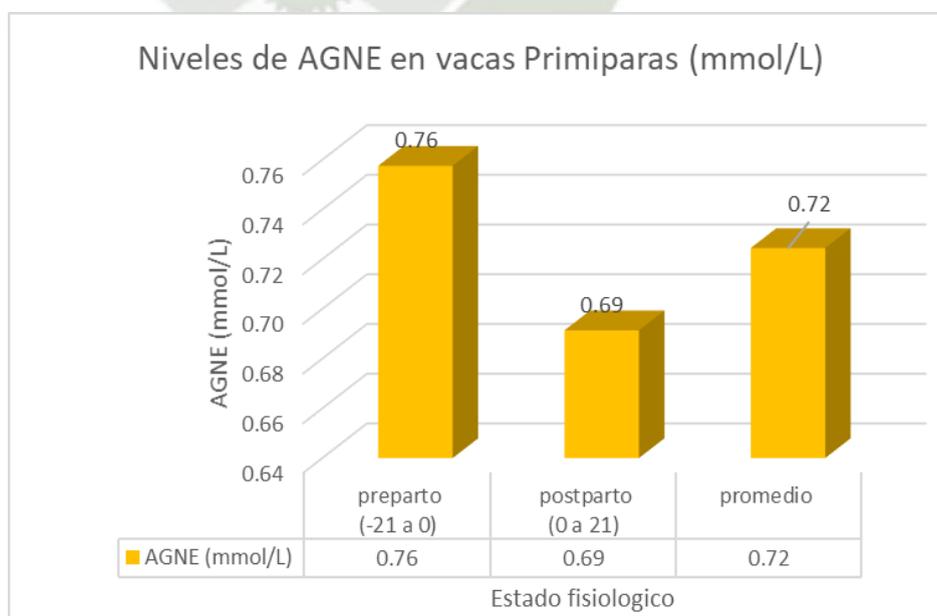
En los valores de preparto no se encontró diferencia estadística significativa entre multíparas y primíparas ($p > 0.05$). Mientras que en postparto se observó una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre primípara y multíparas.

Gráfico 4: Niveles de AGNE en Vacas Multiparas



En los análisis de muestras tomadas sobre niveles de AGNE en suero sanguíneo de vacas múltiparas se encontraron los valores promedios de 0.66 y 0.51 para los periodos de -21 a 0 días preparto y 0 a 21 días postparto respectivamente. Mostrando una disminución de ácidos grasos no esterificados del preparto al postparto

Gráfico 5: Niveles de AGNE en Vacas Primíparas



En el caso de las muestras de las vacas primíparas se encontraron los valores promedio de 0.76 y 0.69 para los periodos de -21 a 0 días preparto y 0 a 21 días postparto respectivamente, encontrándose en disminución.

4.1.2. Frecuencia de Balance Energético Negativo:

Teniendo en cuenta que las vacas lecheras con buen valor genético tienen una modesta movilización de lípidos y una concentración de AGN de unos 0,5 mM durante el balance energético positivo. Se considera que las concentraciones superiores a 0.70 mM de ácidos graso no esterificados en suero indican la presencia de balance energético negativo (BEN) y una elevada movilización lipídica, ya que se requiere una alta demanda energética durante el periparto. (26) De los valores de AGNE obtenidos de las muestras de suero se procedió a analizar para obtener la frecuencia de balance energético negativo general, esta información se puede observar en el Cuadro N °7

Cuadro N° 7) Frecuencia General de Balance energético negativo

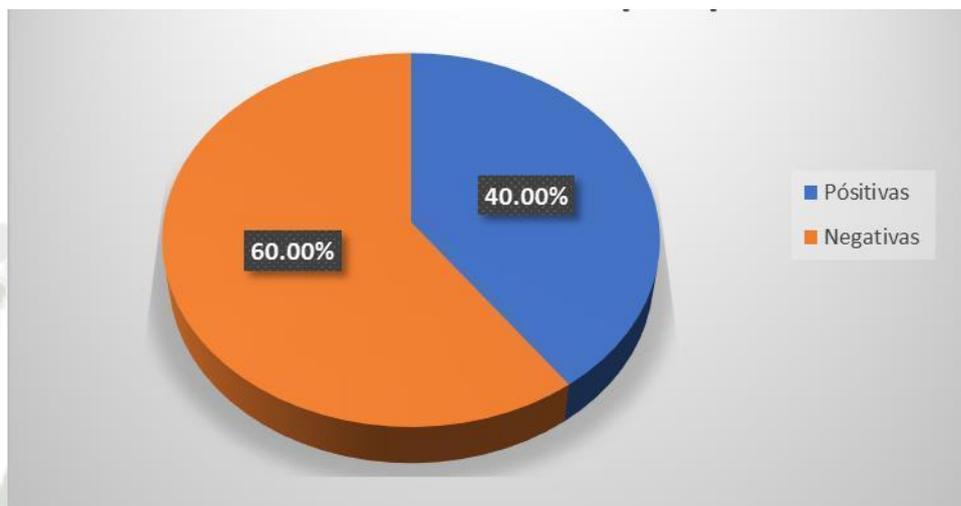
Frecuencia general de BEN					
	Preparto (-21 a 0)		Postparto (0 a 21)		Total
	N	%	N	%	
Positivas	8	40.00%	3	15.00%	11
Negativas	12	60.00%	17	85.00%	29
Total	20		20		40

En el Cuadro N°7 los datos fueron recolectados y procesados en Excel para hacer un recuento de las frecuencias y de porcentajes de frecuencia de balance energético negativo

Considerando la totalidad de las vacas y un punto de corte de nivel de AGNE >0.7mmol/L se obtuvo una frecuencia general de 15 % para el periodo de -21 a 0 días postparto y de 40 % para el periodo de 0 a 21 días postparto. Esto demostró una mayor predeterminación de balance energético negativo en la fase de postparto.

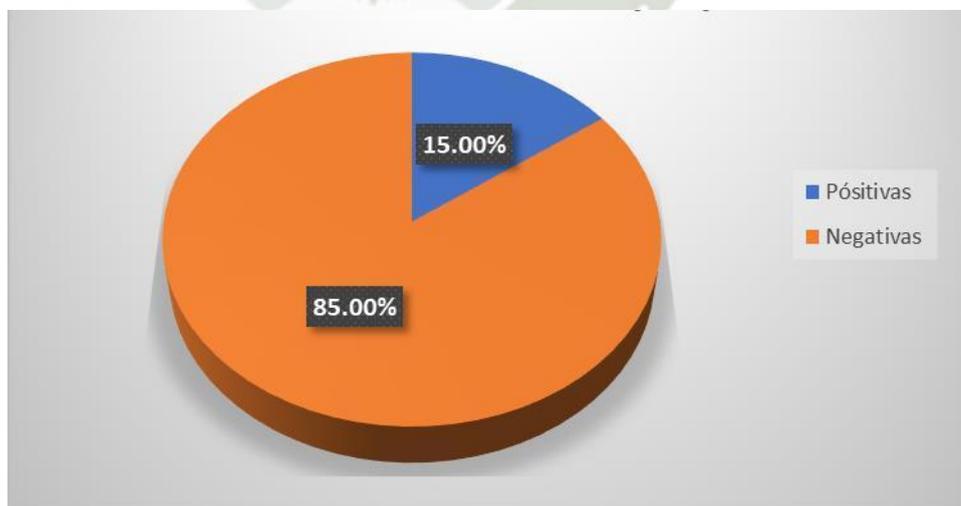
Al realizar la prueba de chi cuadrado se observó influencia de los periodos de estados fisiológicos (preparto y postparto) con la frecuencia de balance energético negativo.

Gráfico 6: Frecuencia de Balance Energético Negativo En Preparto



En las muestras de preparto (-21 a 0) todos los casos positivos de balance energético negativo fueron de primíparas.

Gráfico 7: Frecuencia de Balance energético negativo en postparto



En las muestras de postparto (0 a 21) la mayoría de los casos positivos de balance energético negativo fueron de primíparas.

4.1.3. Comparación de los Niveles de Producción de Leche (Its/día) Según Número de Parto y Días en Lactación

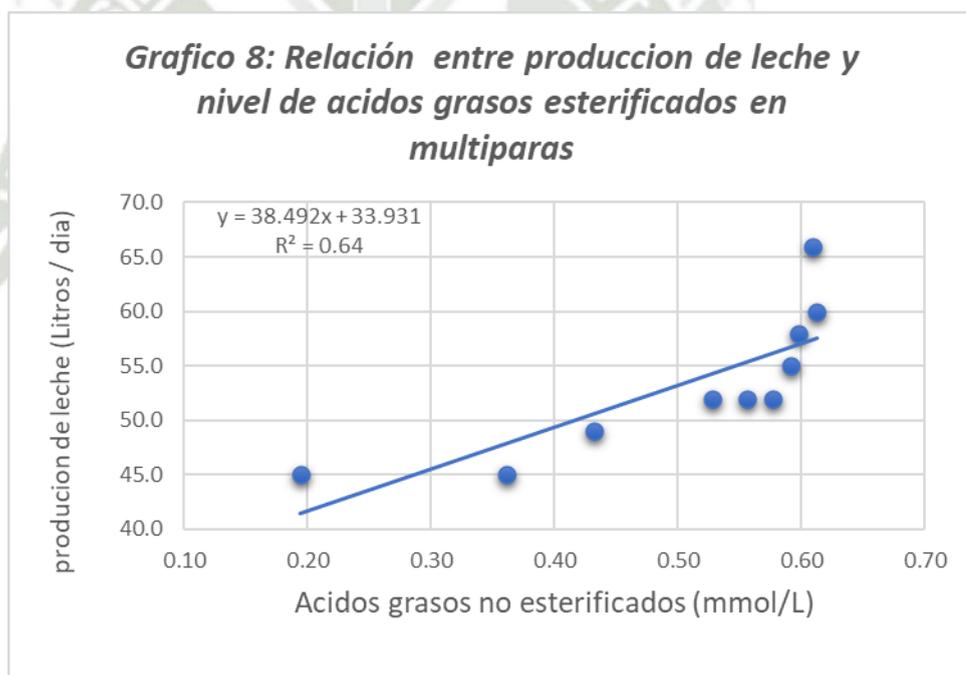
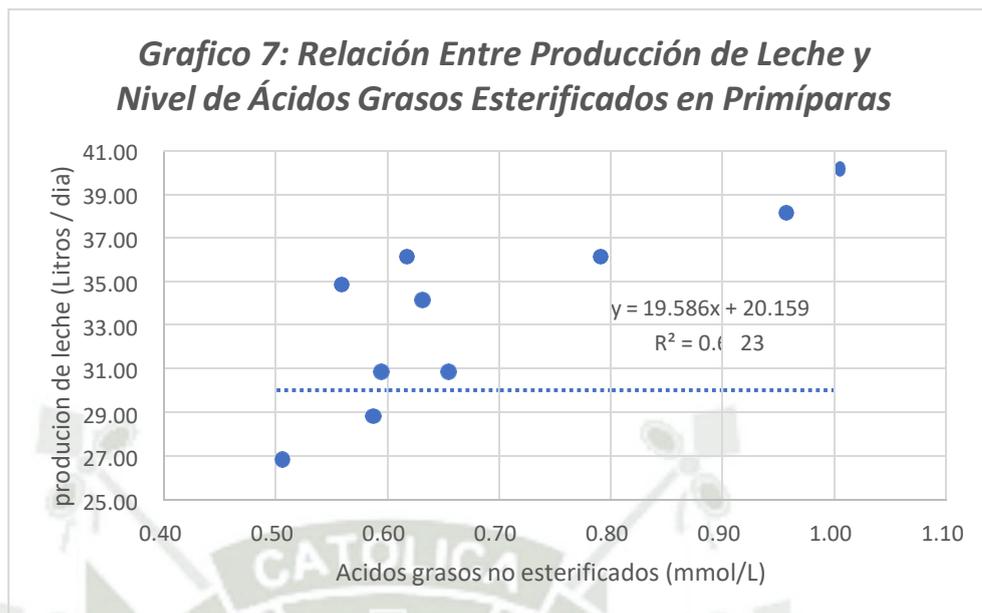
Se recopilaron los datos del sistema de datos de la granja sobre las unidades experimentales para conocer su producción de leche y su número de partos que habían tenido. Esto con el objetivo de comparar los niveles de producción obtenidos en postparto para vacas multíparas y primíparas. Al observar el cuadro N°8 se muestran que la mayor producción de leche (litros /día) la tienen las vacas multíparas con una diferencia aproximada de 20 litros/día. Mientras que el mayor nivel ácidos grasos no esterificados se dio en las primíparas.

Cuadro N°8) Comparación de Los Niveles de Producción de Leche(Its/día) y AGNE Según Número de Parto.

	Producción de leche (Lts/día)	AGNE (mmol/L)
multíparas	53.40	0.51
primíparas	33.70	0.69
promedio	44.02	0.60

4.1.4. Coeficiente de Correlación Entre Nivel de Ácidos Grasos No Esterificados y Producción de Leche.

Se analizó el coeficiente de correlación de nivel de ácidos grasos no esterificados y producción de leche en el periodo de 0 a 21 días postparto. Al tabular y procesar los datos se consiguió el valor de 0.8 en el coeficiente de correlación, indicando una correlación positiva o directa muy alta entre el nivel de ácidos grasos no esterificados y la producción láctea, lo que indica que a mayor producción de leche de la vaca mayor será su necesidad energética, haciendo una mayor lipomovilización aumentando las cantidades de ácidos grasos no esterificados del suero sanguíneo, esto se muestra en el gráfico de dispersión gráfico N° 7 y 8.



En ambos gráficos se demuestra una relación positiva entre la producción de leche y el nivel de ácidos grasos no esterificados tanto en las primíparas como en las múltiparas, aunque su dispersión sea distinta y su fórmula lineal también demuestran un similar coeficiente de determinación de 0.64 en los dos casos

4.2. Discusión

4.2.1. Determinación del Nivel de Ácidos Grasos no Esterificados

Como Método de Diagnóstico de Balance Energético Negativo:

Los sucesos fisiológicos comunes asociados con el parto de los mamíferos y el inicio de la lactancia inducen cambios en la lipólisis y la lipogénesis. La lipomovilización es una adaptación fisiológica de los mamíferos en respuesta a la disponibilidad reducida de nutrientes y energía. Investigaciones anteriores mostraron que la lipomovilización no solo afecta las concentraciones relativas de lípidos plasmáticos totales y las fracciones correspondientes, sino que también provoca variaciones significativas en la estructura de ácidos grasos. **(26)**

Los ácidos grasos no esterificados tienen funciones en procesos de señalización intracelular, modificación de funciones celulares y como sustratos energéticos. En general, la disminución del contenido corporal de tejido adiposo (lipomovilización), reflejada por un aumento de ácidos grasos no esterificados, acarrea a un deterioro de las funciones de las células metabólicas e inmunitarias que vuelven al animal propenso a enfermedades de estos tipos. **(27)**

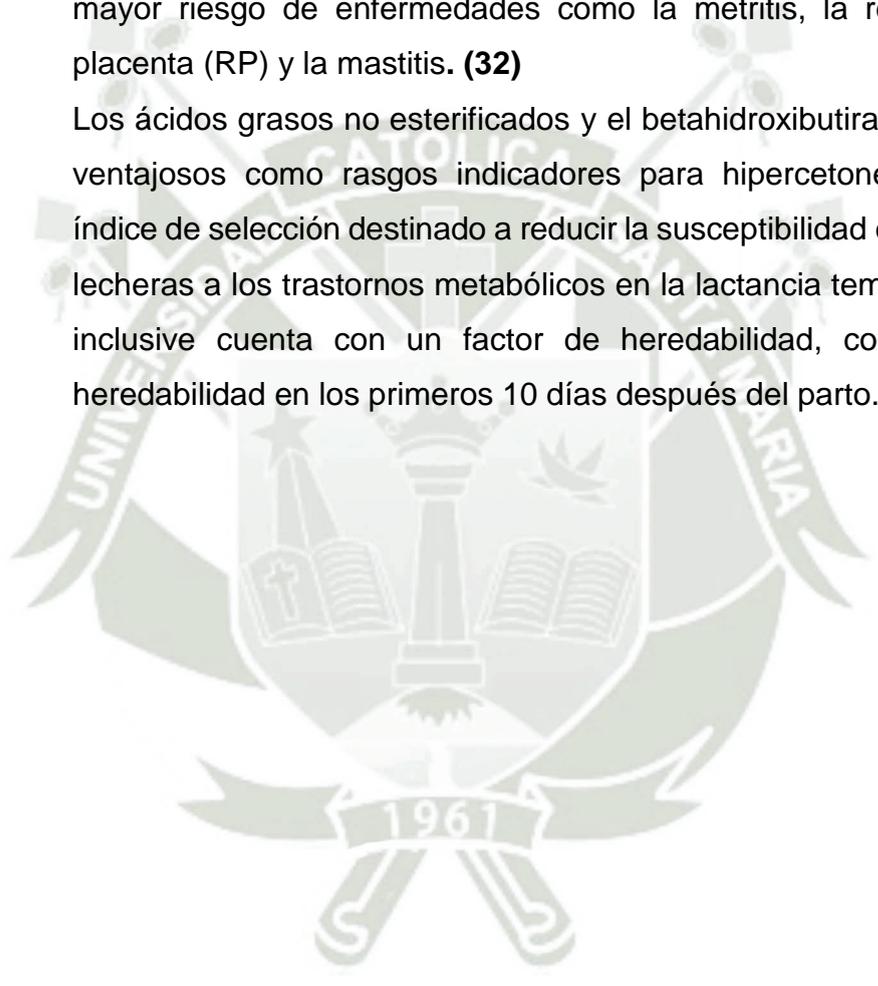
En esta investigación se obtuvieron resultados acordes con lo dicho. Mientras que en una investigación en México donde utilizaron 50 vacas también clínicamente sanas tomaron muestras a los 7, 15, 30, 45 y 60 días después del parto para analizar ácidos grasos no esterificados y otros analitos en sangre obtuvieron unos resultados muy bajos comparados a los obtenidos en este estudio siendo 0.12 mmol/L su promedio a los 30 días postparto, no encontrando ninguna vaca con balance energético negativo, pero acordando que durante el periodo de seca, el uso de AGNE es un mejor indicador de BEN en comparación con el β -HBA. **(28)**

En cambio, en otro estudio que se llevo a cabo en Sao Paulo donde usaron 232 vacas lecheras multíparas. Se tomaron muestras de sangre los días 21 y 7 días antes del parto, el día del parto y 7 y 21 días después del parto para analizar AGNE. Obteniendo resultados mas acordes a nuestra investigación con una media de 0.39 y 0.51 para los días 21 antes del parto y 21 días después del parto respectivamente **(29)**. Además, también se reporta que las concentraciones altas de AGNE se asocian con una pérdida de

condición corporal. **(30)**. Se sabe que las altas concentraciones de NEFA en sangre son un factor de riesgo para la mortalidad fetal, ya que se sabe que las vacas multíparas con un ternero nacido muerto tienen mayores concentraciones séricas de NEFA antes del parto que las vacas multíparas con un ternero vivo. **(31)**

Además, la investigación epidemiológica ha demostrado una relación entre los niveles elevados de ácidos grasos no esterificados y un mayor riesgo de enfermedades como la metritis, la retención de placenta (RP) y la mastitis. **(32)**

Los ácidos grasos no esterificados y el betahidroxibutirato van a ser ventajosos como rasgos indicadores para hiperetonemia de un índice de selección destinado a reducir la susceptibilidad de las vacas lecheras a los trastornos metabólicos en la lactancia temprana. Esto inclusive cuenta con un factor de heredabilidad, con la mayor heredabilidad en los primeros 10 días después del parto. **(33)**





CAPITULO V

CONCLUSIONES

PRIMERA: Se evaluó los niveles normales de ácidos grasos no esterificados de vacas en el periodo de periparto: preparto (21 a 0) y postparto (0 a 21). En preparto se obtuvieron las medias de 0.66 y 0.76 mmol/L en vacas multíparas y primíparas respectivamente. En los valores de preparto no se encontró diferencia estadística significativa entre multíparas y primíparas ($p > 0.05$). En postparto se obtuvieron las medias de 0.51 y 0.69 mmol/L para multíparas y primíparas respectivamente. Donde se observó una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

SEGUNDA: Se determinó los niveles normales de AGNE en vacas multíparas y primíparas, encontrándose que el grupo de primíparas obtuvo niveles más elevados de AGNE en preparto que el grupo de Multíparas. Siendo el valor más alto alcanzado por las primíparas en postparto con 1.00 mmol/L.

TERCERA: La frecuencia de Balance energético negativo en preparto solo se halló en primíparas, mientras que en postparto (0 a 21 días) la mayoría de casos de balance energético negativo fue de primíparas. La capacidad de predecir qué animales tienen más probabilidades de desarrollar enfermedades en función de las concentraciones de NEFA podría ayudar a los productores a prevenir enfermedades de manera proactiva al centrarse en estrategias nutricionales y de manejo para prevenir enfermedades clínicas y subclínicas.

CUARTA: Se comprobó que los niveles normales de ácidos grasos no esterificados según el nivel de producción de vacas lechera se encuentran en una relación directa respecto a la producción de leche con el nivel de ácidos grasos no esterificados, demostrándose así que la forma en que afecta tener un nivel alto de producción de leche se encontrara con un nivel alto de AGNE muy probablemente por la mayor demanda energética al producir más litros de leche.



RECOMENDACIONES

PRIMERA: Se recomienda evaluar periódicamente los ácidos grasos no esterificados para detectar el balance energético negativo en vacas preparto ya que se sabe que estos tienen mayor especificidad en preparto que otros metabolitos sanguíneos, de esta forma se podrá evitar la presencia de enfermedades metabólicas como cetosis e hipocalcemia que son las más comunes.

SEGUNDA: Se recomienda evaluar los ácidos grasos no esterificados en vacas de alta producción de leche para diagnosticar balance energético negativo lo más antes posible y evitar las enfermedades asociadas a este.

TERCERA: Dado que la prueba enzimática con determinación del punto final tiene una sensibilidad muy alta para detectar el balance energético negativo, se aconseja utilizarla para medir las cantidades de ácidos grasos no esterificados.

CUARTA: Para maximizar la especificidad de la evaluación, se aconseja analizar los ácidos grasos no esterificados junto con metabolitos sanguíneos adicionales como el BHBA.



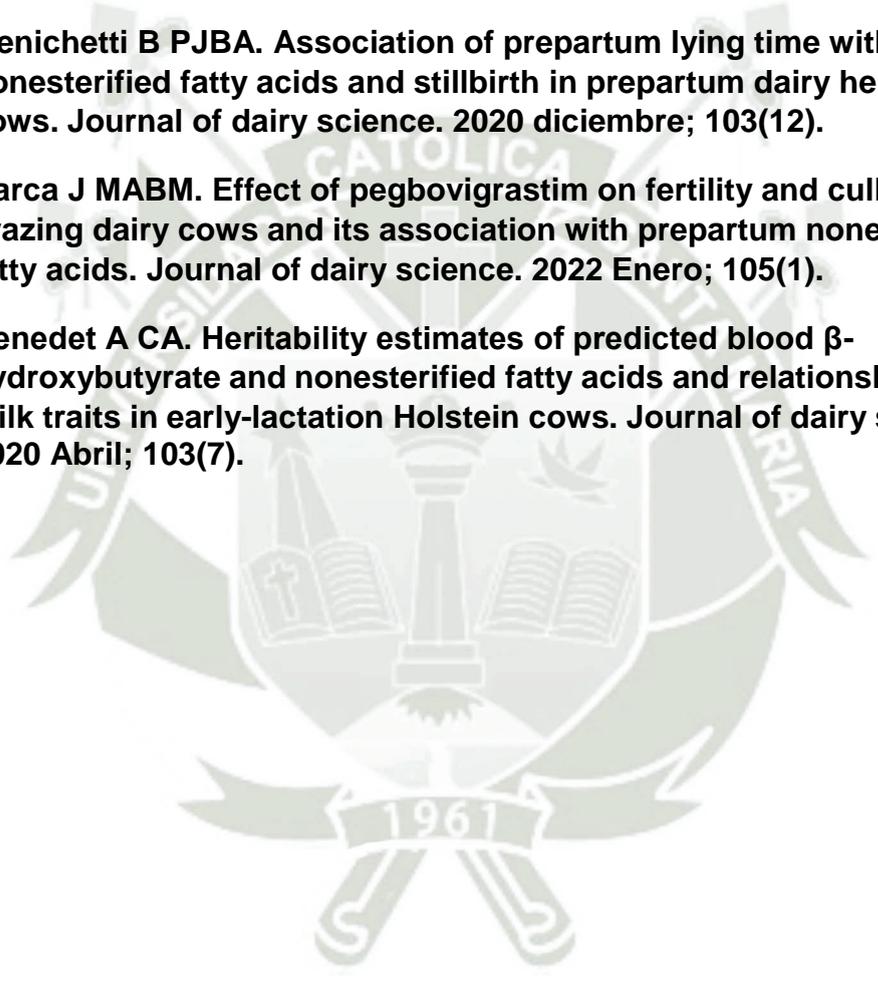
CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

1. Global Ag Media. The cattle site. [Online].; 2020 [cited 2022 Marzo 16]. Available from:
<https://www.thecattlesite.com/breeds/dairy/22/holstein/>.
2. Reátegui J. Zootecnia texto guía. In.; 2006.
3. Bonifaz N GF. Valor nutritivo de las materia primas empleadas en la alimentacion de bovinos de leche en ganaderias de canton Cayambe. la granja. revistas de ciencai de la vida. 2015; 25(1).
4. Fundacion Chile. Manual de Produccion chile; 2008.
5. INIA. manual bovino de carne V G, editor. Santiago de Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias; 2017.
6. Stritzler N RC. Nutricion y alimentacion de rumeantes en la region semiarida Central Argentina La Pampa: EdUNLPam; 2019.
7. T H. Nutritional Requirements of Dairy Cattle: universidad del estado de Michigan; 2015.
8. Mendoza G RR. alimentacion de ganado bovino con dietas altas en grano. segunda ed. Mexico D. F.: Calzada Del Hueso; 2016.
9. Balbuena O. Nutrición y Alimentación Requerimientos de la Vaca de Cría Chaco: INTA; 2003.
10. Slippers S. NEL as a measure or feed energy in dairy cow nutrition; 2003.
11. Churakov M KJea. Milk fatty acids as indicators of negative energy balance of dairy cows in early lactation. Animal. 2021 Julio; 15(7).
12. Cardoso F. Indicadores hematológicos, bioquímicos e ruminais no diagnóstico do deslocamento de abomaso à esquerda em vacas leiteiras do Sul do Brasil. Pesquisa agropecuaria brasileira. 2008; 43.
13. Grigera J BF. Evaluacion del estado corporal de vacas lecheras. Sitio Argentino de produccion animal. 2005.
14. Michigan State University Extension. Negative energy balance influences fertility of dairy cows. ; 2013.
15. McNamara S MJRMMF. Effects of different transition diets on energy balance, blood metabolites and reproductive performance in dairy cows. Livestock Production Science. 2003 Diciembre; 83(3).

16. Pennstate extension. Metabolic Profiling. 2013 noviembre.
17. Kelton D LKMR. Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle. Journal of Dairy Science. 1998 septiembre; 81(9).
18. Contreras G SL. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 2011 Mayo ; 34(3).
19. Giulliodori M. El periparto en las vacas lecheras: Balance energetico, actividad ovárica, salud uterina y eficiencia reproductiva. Tesis doctoral. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias; 2012.
20. Germano F. Ácidos graxos não esterificados (NEFAs) e beta-hidroxibutirato (BHBA) na regulação da foliculogênese e epigenética das células endometriais. Tesis de maestria. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Medicina Veterinária; 2020.
21. Gruber S TMKMRAHFPBCHSDDMR. Evaluation of an early warning system for elevated β -hydroxybutyrate and non-esterified fatty acid values based on Fourier transform infrared spectra from routine milk samples. Milk Science International. 2021 Abril; 74(2).
22. Bach K BDMJ. The relationship of excessive energy deficit with milk somatic cell score and clinical mastitis. Journal of Dairy Science. 2021 Enero; 104(1).
23. Benedet A FMPMPEDMM. Prediction of blood metabolites from milk mid-infrared spectra in early-lactation cows. Journal of Dairy Science. 2019 Diciembre; 102(12).
24. DiaSys. NEFA FS; 2021.
25. Ardila G. Bioestadística inferencial y multivariada - 1ra edición: rigurosamente sencilla Bogota: Ecoe ediciones; 2022.
26. Douglas G ea. Prepartum nutrition alters fatty acid composition in plasma, adipose tissue, and liver lipids of periparturient dairy cows. Journal dairy science. 2007; 90.
27. Mora S PJ. An adipocentric view of signaling and intracellular trafficking. Diabetes Metab. 2002; 18.
28. Prado O ea. Determinación de ácidos grasos no esterificados, β -hidroxibutirato, triacilglicerol y colesterol durante el balance energético negativo en vacas Holstein. Abanico Vet. 2021 Marzo; 9.

29. Barletta R MMea. Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. *Theriogenology*. 2017 Diciembre; 104.
30. Adrien M ea. Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*. 2015 Julio; 6(2).
31. Menichetti B PJBA. Association of prepartum lying time with nonesterified fatty acids and stillbirth in prepartum dairy heifers and cows. *Journal of dairy science*. 2020 diciembre; 103(12).
32. Barca J MABM. Effect of pegbovigrastim on fertility and culling in grazing dairy cows and its association with prepartum nonesterified fatty acids. *Journal of dairy science*. 2022 Enero; 105(1).
33. Benedet A CA. Heritability estimates of predicted blood β -hydroxybutyrate and nonesterified fatty acids and relationships with milk traits in early-lactation Holstein cows. *Journal of dairy science*. 2020 Abril; 103(7).



ANEXOS

Anexo N°1 Resultados del tet de NEFA

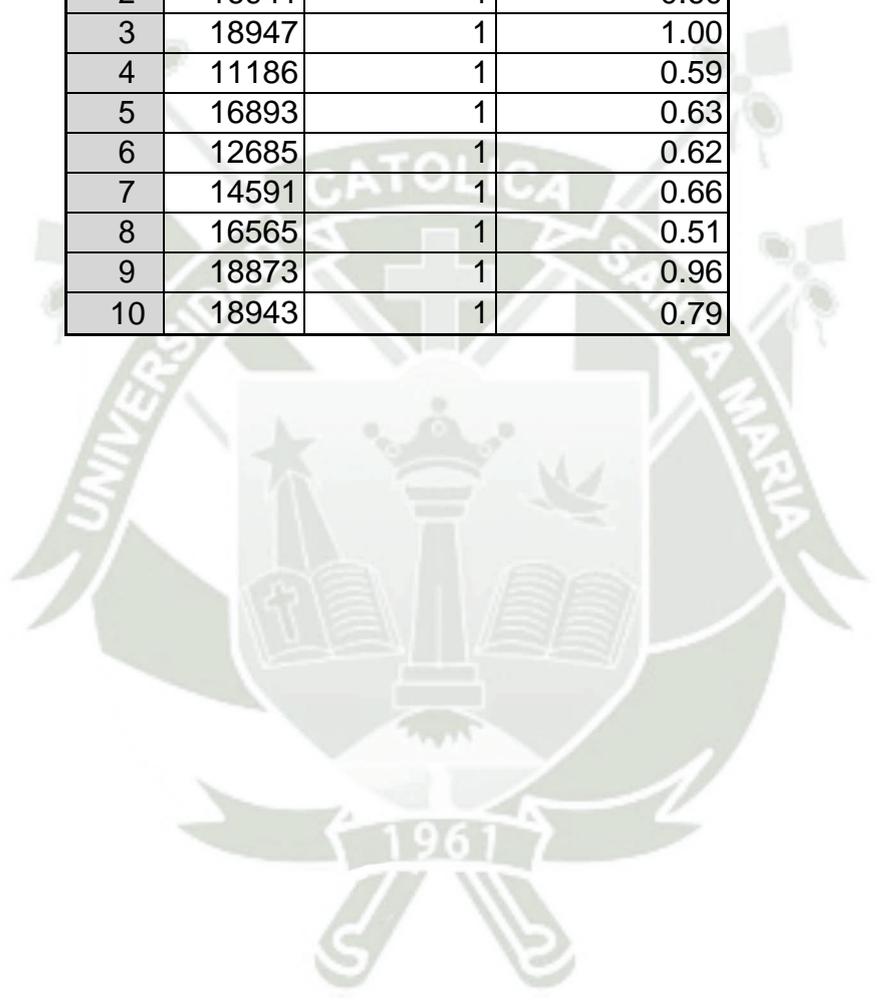
Múltiparas de 21 a 0 días preparto			
Nro.	Código	N° Lactación	Resultados de Test
1	14409	4	0.47
2	16941	3	1.00
3	18947	2	0.59
4	11186	6	1.02
5	16893	3	0.61
6	12685	5	0.53
7	14591	4	0.42
8	16565	3	0.67
9	18873	2	0.59
10	18943	2	0.73

Múltiparas de 0 a 21 días postparto			
Nro.	Código	N° Lactación	Resultados de Test
1	14409	4	0.53
2	16941	3	0.43
3	18947	2	0.60
4	11186	6	0.59
5	16893	3	0.61
6	12685	5	0.61
7	14591	4	0.56
8	16565	3	0.58
9	18873	2	0.36
10	18943	2	0.19

Primíparas de 21 a 0 días preparto			
Nro.	Código	N° Lactación	Resultados de Test
1	14409	1	0.69
2	16941	1	0.68
3	18947	1	0.74
4	11186	1	1.05
5	16893	1	0.89
6	12685	1	0.64
7	14591	1	0.60
8	16565	1	0.75

9	18873	1	0.66
10	18943	1	0.88

Primíparas de 0 a 21 días postparto			
Nro.	Código	N° Lactación	Resultados de Test
1	14409	1	0.56
2	16941	1	0.60
3	18947	1	1.00
4	11186	1	0.59
5	16893	1	0.63
6	12685	1	0.62
7	14591	1	0.66
8	16565	1	0.51
9	18873	1	0.96
10	18943	1	0.79



ANEXO N°2
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Análisis de prueba de t en vacas postparto

Toma de muestra preparto			
multíparas		primíparas	
N° de vaca	mmol/dl	N° de vaca	mmol/dl
1	0.53	11	0.56
2	0.43	12	0.60
3	0.60	13	1.00
4	0.59	14	0.59
5	0.61	15	0.63
6	0.61	16	0.62
7	0.56	17	0.66
8	0.58	18	0.51
9	0.36	19	0.96
10	0.19	20	0.79

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	NEFA <i>multíparas</i>	NEFA <i>primíparas</i>
Media	0.5057952	0.691362
Varianza	0.018833736	0.028293707
Observaciones	10	10
Varianza agrupada	0.023563722	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	-2.703107632	
P(T<=t) una cola	0.007277635	
Valor crítico de t (una cola)	1.734063607	
P(T<=t) dos colas	0.01455271	
Valor crítico de t (dos colas)	2.10092204	

Análisis de prueba de t en vacas preparto

Toma de muestra preparto			
multíparas		primíparas	
N° de vaca	mmol/L	N° de vaca	mmol/L
1	0.47	11	0.69
2	1.00	12	0.68
3	0.59	13	0.74
4	1.02	14	1.05
5	0.61	15	0.89
6	0.53	16	0.64
7	0.42	17	0.60
8	0.67	18	0.75
9	0.59	19	0.66
10	0.73	20	0.88

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Multíparas</i>	<i>Primíparas</i>
Media	0.664104	0.75756
Varianza	0.041883949	0.019443474
Observaciones	10	10
Varianza agrupada	0.030663711	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	-1.19338296	
P(T<=t) una cola	0.124105963	
Valor crítico de t (una cola)	1.734063607	
P(T<=t) dos colas	0.248211925	
Valor crítico de t (dos colas)	2.10092204	

Análisis de prueba de t pareada en vacas preparto y postparto

Nro.	AGNE preparto	AGNE postparto
1	0.47	0.53
2	1.00	0.43
3	0.59	0.60
4	1.02	0.59
5	0.61	0.61
6	0.53	0.61

7	0.42	0.56
8	0.67	0.58
9	0.59	0.36
10	0.73	0.19
11	0.69	0.56
12	0.68	0.60
13	0.74	1.00
14	1.05	0.59
15	0.89	0.63
16	0.64	0.62
17	0.60	0.66
18	0.75	0.51
19	0.66	0.96
20	0.88	0.79

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	NEFA <i>preparto</i>	NEFA <i>postparto</i>
Media	0.710832	0.5985786
Varianza	0.031348259	0.031385378
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	0.019075082	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	2.023701182	
P(T<=t) una cola	0.028648063	
Valor crítico de t (una cola)	1.729132812	
P(T<=t) dos colas	0.057296127	
Valor crítico de t (dos colas)	2.093024054	

Cuadro resumen de todos los datos:

Nro.	NEFA preparto	NEFA postparto	Número de partos	Producción de leche
1	0.47	0.53	4	52.00
2	1.00	0.43	3	55.00
3	0.59	0.60	2	58.00
4	1.02	0.59	6	45.00
5	0.61	0.61	3	66.00
6	0.53	0.61	5	60.00
7	0.42	0.56	4	49.00
8	0.67	0.58	3	52.00
9	0.59	0.36	2	52.00
10	0.73	0.19	2.00	45.00
11	0.69	0.56	1.00	35.00
12	0.68	0.60	1.00	31.00
13	0.74	1.00	1.00	29.00
14	1.05	0.59	1.00	38.00
15	0.89	0.63	1.00	40.00
16	0.64	0.62	1.00	36.00
17	0.60	0.66	1.00	36.00
18	0.75	0.51	1.00	27.00
19	0.66	0.96	1.00	31.00
20	0.88	0.79	1.00	34.00

ANEXO N°3
SECUENCIA FOTOGRAFICA



FOTOGRAFIA N°1 :
Selección de animales por muestreo
aleatorio simple.



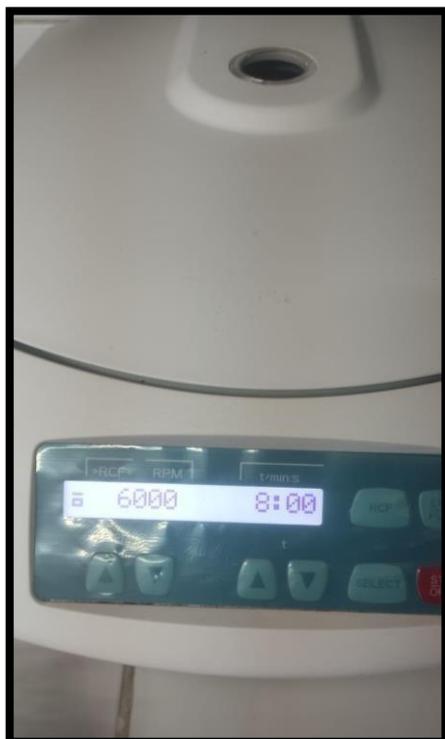
FOTOGRAFIA N°2:
Colocación del animal
en la manga para la
toma de muestra.



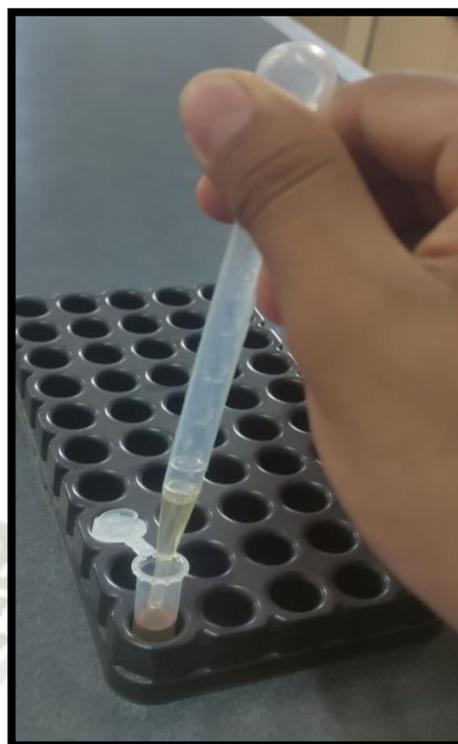
FOTOGRAFIA N°3 :
Toma de muestra de sangre por la vena
coccígea.



FOTOGRAFIA N°4 :
Colocación de la
muestra de sangre
en la centrifuga.



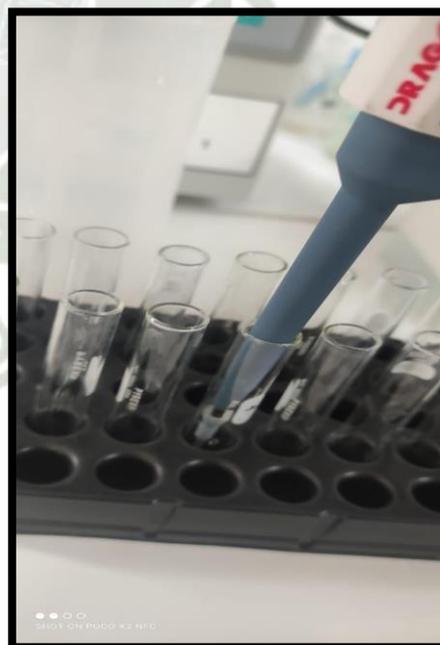
FOTOGRAFIA N°4:
Centrifugar las muestras por
8 minutos a 6000 rpm.



FOTOGRAFIA N°5:
Extraer el suero sanguíneo
de las muestras.



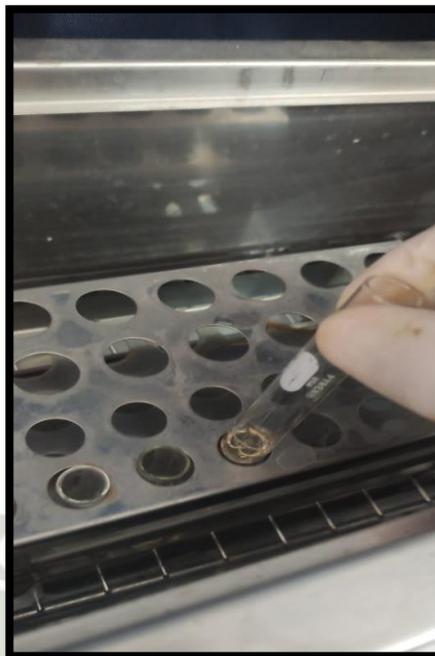
FOTOGRAFIA N°6:
Rotular las muestras.



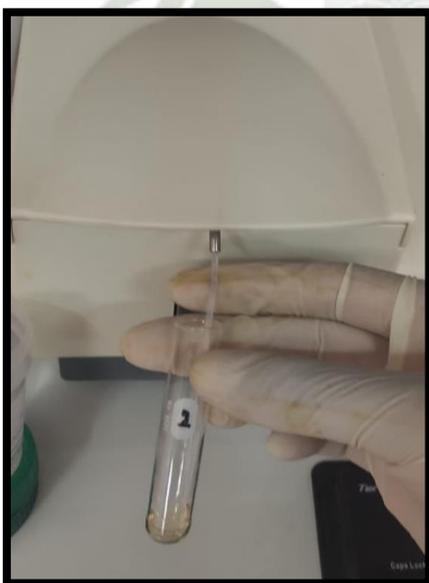
FOTOGRAFIA N°7:
Colocar la muestra en los
tubos de ensayo.



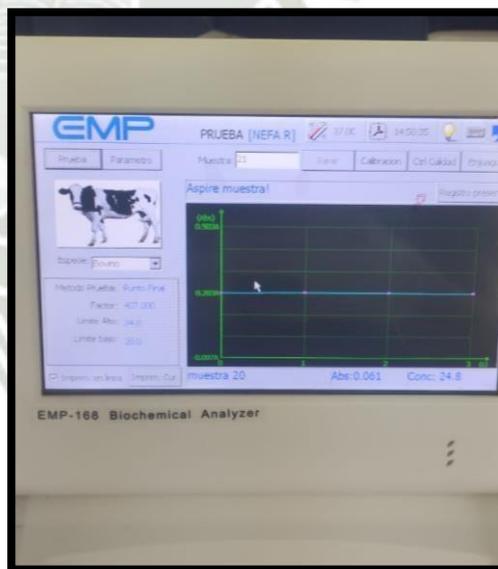
FOTOGRAFIA N°8:
Adición de los reactivos
del kit NEFA



FOTOGRAFIA N°8:
Colocación de muestras
en baño maría por 10
minutos a 37 ° C



FOTOGRAFIA N°9:
Aspiración de la muestra
por el analizador
bioquímico



FOTOGRAFIA N°10:
Lectura de la
concentración de AGNE de
las muestras