

**FRECUENCIA DE CETOSIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE LA HACIENDA
ASTURIAS EN LA VEREDA EL AGUACATE DEL MUNICIPIO DE PEREIRA**

SARA VIVIANA SEPULVEDA MENA

MATEO RENDÓN BETANCOURT

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN TÉCNICAS DE MEJORAMIENTO NUTRICIONAL
EN ANIMALES
PEREIRA
2015**

FRECUENCIA DE CETOSIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE LA HACIENDA
ASTURIAS EN LA VEREDA EL AGUACATE DEL MUNICIPIO DE PEREIRA

SARA VIVIANA SEPULVEDA MENA

MATEO RENDÓN BETANCOURT

Trabajo de grado para optar por el título profesional en Medicina Veterinaria y
Zootecnia

Directora

MVZ, Esp, Cand a MSc LUZ ANDREA GUERAVA GARAY

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN TÉCNICAS DE MEJORAMIENTO NUTRICIONAL
EN ANIMALES
PEREIRA

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen	5
Introducción	6
Planteamiento del problema y justificación	7
Hipótesis	8
Objetivos	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
Marco teórico	9
Materiales y métodos	18
Resultados y discusión	26
Análisis estadístico	54
Referencias Bibliográficas	59

Frecuencia de cetosis subclínica en vacas de la hacienda Asturias en la vereda El Aguacate del municipio de Pereira

Resumen

La cetosis subclínica es una alteración metabólica que se presenta en animales y seres humanos cuando los requerimientos energéticos se incrementan notablemente desencadenando la liberación de ácidos grasos a partir del tejido adiposo lo cual genera la producción y acumulación de cuerpos cetónicos.

La acumulación de cuerpos cetónicos en sangre tiene efectos negativos en el desempeño productivo y reproductivo del animal y puede, en última instancia, producir la enfermedad con manifestaciones clínicas conocida como cetosis con pérdidas aún mayores para el productor. Los cuerpos cetónicos pueden ser medidos en sangre, leche y orina.

En este trabajo se evaluaron 30 vacas de diferentes tipos raciales, se determinó en estas su condición corporal preparto y postparto así como el nivel de ácido acetoacético en orina en la segunda semana postparto. Se encontraron 7 animales con ácido acetoacético en orina, con niveles entre 8,92 mg/dL y 50 mg/dL, lo cual corresponde a una frecuencia de 23,33% de cetosis subclínica en la Hacienda Asturias. No se encontró ninguna relación estadística entre los cambios de condición corporal pre y postparto con la presencia de ácido acetoacético en orina.

Introducción

El presente trabajo se realizó con el objetivo de identificar la frecuencia de cetosis subclínica en vacas y la relación de esta con los cambios de condición corporal pre y postparto.

La cetosis subclínica es un trastorno metabólico ocasionado por el aumento de cuerpos cetónicos en la circulación sanguínea, producto de la movilización excesiva de grasas en vacas en la fase preparto (1). Esta patología no se manifiesta con signos clínicos, su única manifestación es la disminución en la producción lechera, por lo cual puede no ser percibida por el propietario o administrador de la finca y generar pérdidas económicas. Adicionalmente, esta patología favorece la aparición de enfermedades reproductivas o la cetosis de manifestación clínica.

La mayoría de las pruebas diagnósticas utilizadas en bovinos para determinar esta enfermedad mediante muestras de orina o leche, están basadas en la habilidad de las cetonas, especialmente el ácido acetoacético para tornarse de un color púrpura al entrar en contacto con el nitroprusiato de sodio (prueba de Rothera) (2). La prueba en leche tiene una sensibilidad del 90% y una especificidad del 96% (2), otros autores mencionan una sensibilidad entre 5 y 44% y una especificidad de 98 a 100% (3), mientras que para orina es de 67% y 100% (4) o según otros autores de 49% a 76% y 96% a 99% respectivamente (2)

La prueba de Roche (Keto-Diabur-Test 5000®), utilizada en este trabajo, detecta las cetonas presentes en la orina (ácido acetoacético y acetona) cuando estas entran en contacto con nitroprusiato de sodio y glicina en un medio alcalino, dándole un color púrpura a las tiras reactivas, el cual, posteriormente, es convertido a valores numéricos por medio de un lector digital (5). Esta prueba es más específica para la detección del ácido acetoacético, teniendo como límite inferior 5 mg/dL (6)

Planteamiento del problema y justificación

La cetosis subclínica es una enfermedad metabólica caracterizada por un aumento de cuerpos cetónicos (Beta-hidroxibutirato, acetona y ácido acetoacético) en circulación sanguínea sin la aparición de signos clínicos de cetosis, producida por la movilización de las reservas de grasa y que se manifiesta básicamente con una disminución en la producción lechera (1).

Esta patología ocasiona pérdidas económicas al productor, ya que lleva a una disminución en la producción de leche (2 – 4 litros/día)(1), además de disminuir el rendimiento reproductivo y aumentar el riesgo de presentación de cetosis clínica (7). En términos cuantitativos, las pérdidas económicas generadas por esta enfermedad serían de \$563.030 a \$1'126.060 por vaca afectada, teniendo en cuenta que el precio promedio del litro de leche en Colombia en el 2015 es de \$923 y con lactancias ajustadas a 305 días (8).

La movilización de las reservas de grasa se debe al balance energético negativo que se produce en las últimas semanas de gestación, el cual es generado por el aumento de las necesidades energéticas de la vaca y la disminución en el consumo de materia seca (9). Al ser ésta una enfermedad subclínica, el productor puede no conocerla o no tenerla en cuenta al momento de tomar medidas preventivas para evitar la disminución en la producción de leche.

Debido a las complicaciones generadas por la cetosis subclínica, se hace relevante determinar su prevalencia en las producciones especializadas en producción de leche del municipio de Pereira, con el fin de evitarle al productor posibles pérdidas económicas. Al tomar medidas preventivas contra la cetosis subclínica, se pueden evitar alteraciones en los parámetros productivos y reproductivos como la disminución en la producción de leche, baja condición corporal, aumento de los días abiertos y de los servicios por concepción (10).

También es importante tener en cuenta el estado corporal con el que la vaca se encuentre en el momento del parto. Diferentes autores sostienen que entre mayor sea este valor, mayores serán las reservas de grasa que podrá movilizar, aumentando la acumulación de cuerpos cetónicos (11, 12)

Hipótesis

En el hato lechero especializado de Asturias probablemente se encontrarán animales positivos a cetosis subclínica y este resultado estará relacionado con los animales de mayor condición corporal al parto.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la frecuencia de cetosis subclínica en las vacas del hato lechero de Asturias por medio de la técnica de medición de ácido acetoacético en orina con tiras diagnósticas y relacionar los valores obtenidos con la condición corporal al parto y postparto.

Objetivos específicos

- Seleccionar aleatoriamente los animales a muestrear, determinar en ellos su condición corporal en el período de 30 días o menos antes del parto y realizar el registro de cada uno de estos animales.
- Recolectar muestras de orina en la segunda semana después del parto en los animales seleccionados, para identificar por técnicas de laboratorio la presencia de ácido acetoacético, determinar en el momento de la toma de la muestra su condición corporal post parto.
- Comparar los datos obtenidos de ácido acetoacético con la información individual recolectada.

Marco teórico

La cetosis es una enfermedad metabólica que puede afectar a las hembras mamíferas postparto debido al rápido y pronunciado incremento en los requerimientos energéticos para la producción de leche, al mismo tiempo que el animal presenta una disminución del consumo voluntario; esta patología puede ser de carácter subclínico o clínico (13) .

En animales monogástricos la fuente de cetonas son los ácidos grasos no esterificados (NEFAS), que son liberados de las reservas grasas durante episodios de balance energético negativo, para convertirse en una fuente rápida de energía. En rumiantes tanto los NEFAS como los ácidos grasos volátiles (AGV) producidos por la fermentación ruminal son fuente de cetonas, de estos, principalmente el butirato es convertido a beta-hidroxibutirato (BHB) en las paredes ruminales y el hígado (13).

La cetosis en vacas se ha registrado entre la segunda y octava semana postparto. El curso subclínico se caracteriza por la disminución en la producción de leche (2-4 litros/día) sin signos clínicos evidentes, la cual es ocasionada por un aumento de cuerpos cetónicos en circulación sanguínea (acetona, ácido acetoacético y beta-hidroxibutirato) (1). La concentración sanguínea de cuerpos cetónicos totales en mamíferos bien alimentados es de 0,2 mmol/L, pero en rumiantes es mayor debido a la formación de beta-hidroxibutirato en pared ruminal a partir del ácido butírico (14). Los precursores de los cuerpos cetónicos son las grasas de la dieta y las reservas corporales de los animales, y resultan del metabolismo de lípidos y glicéridos (15). En mamíferos, el incremento de la concentración de BHB en sangre indica que existe una lipólisis activa. Sin embargo, en rumiantes, este fenómeno también puede ser el resultado del exceso en la absorción de butirato a nivel ruminal por consumo de ensilajes en mal estado, en este caso se denomina una cetosis alimentaria (13).

La liberación de ácidos grasos libres (AGL) desde el tejido adiposo se debe a la disminución en la secreción de insulina y al aumento en la secreción del glucagón que se presenta cuando los niveles de glucosa plasmática se encuentran disminuidos (16). El hígado tiene la capacidad de captar hasta el 30% de los AGL que pasan a través de él. Una vez llegan a éste órgano, pueden ser transformados en cuerpos cetónicos o ser reesterificados y liberados en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (14).

En animales sanos, la degradación de ácidos grasos es realizada principalmente en el hígado mediante beta-oxidación, con lo cual se generan moléculas de acetil CoA, que una vez ingresan al ciclo de Krebs producen energía en forma de ATP. Cuando se presenta un exceso en la movilización grasa, la capacidad oxidativa del hígado se ve comprometida, lo que lleva a que las moléculas de acetil CoA no puedan incorporarse al ciclo de Krebs debido a una cantidad insuficiente de oxaloacetato; este exceso de acetil CoA es lo que da origen a la producción de los cuerpos cetónicos (15).

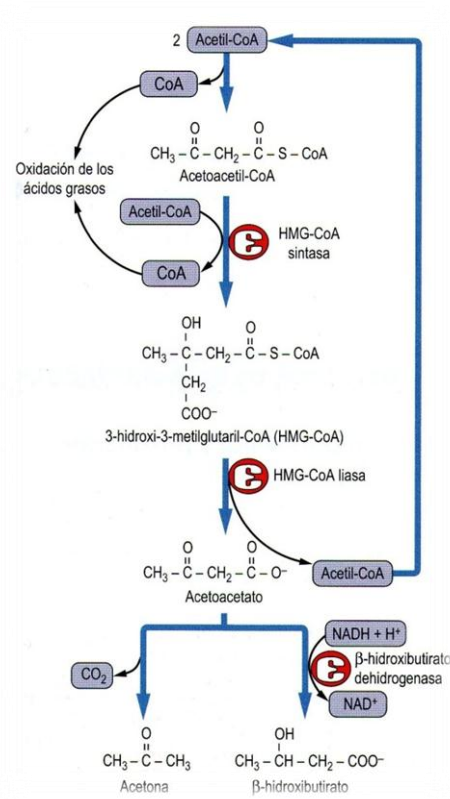
Los cuerpos cetónicos son utilizados después de su formación y normalmente no se acumulan en sangre. Sin embargo, en condiciones anormales se acumulan debido a que la velocidad de su producción es mayor a la capacidad que tiene el organismo para utilizarlos (16). Este proceso se presenta cuando la oxidación de ácidos grasos en el hígado se encuentra aumentada (14).

Los cuerpos cetónicos pueden ser utilizados por cualquier tejido excepto el hepático. La acetil-CoA, antes de transformarse en cuerpos cetónicos en el hígado, se transforma en acetoacetil-CoA mediante la condensación de dos de estas moléculas por acción de la enzima beta-cetotiolasa, o puede proceder del tramo final de la beta-oxidación (16). Para formar ácido acetoacético, la acetoacetil-CoA debe condensarse con otra molécula de acetil-CoA para formar 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA), esta reacción es catalizada por la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA sintasa; y por acción de otra enzima mitocondrial (3-

hidroxi-3-metil-glutaril-CoA liasa) se separa la acetil-CoA de la HMG-CoA dejando libre el ácido acetoacético (14).

El beta-hidroxibutirato es producido cuando el ácido acetoacético se reduce (16), o puede ser interconvertido con el ácido acetoacético por medio de la beta-hidroxibutirato deshidrogenasa y su equilibrio es regulado por la proporción de NAD⁺ a NADH. La acetona se origina como producto de la descarboxilación de una parte del ácido acetoacético en el hígado (14).

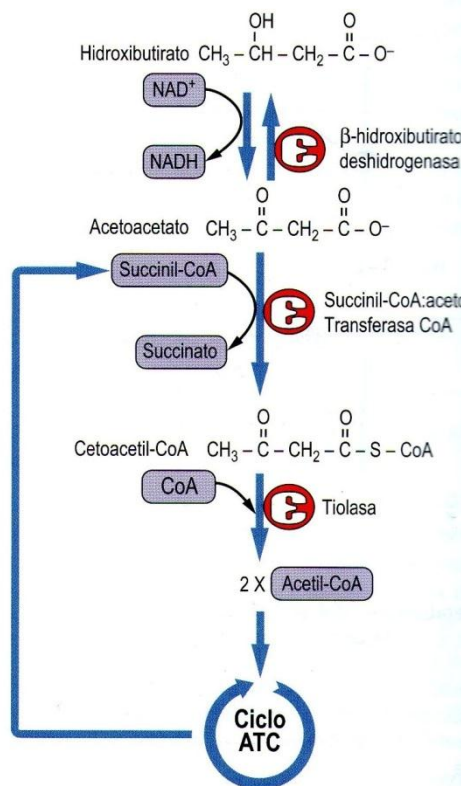
Figura 1. Vía de la cetogénesis a partir de acetil-CoA. Tomada de Baynes y Dominiczac, 2011 (17).



El catabolismo de los cuerpos cetónicos se realiza en los tejidos extrahepáticos, ya que el hígado no cuenta con las enzimas necesarias para realizarlo. En este catabolismo se involucra la succinil-CoA, el ácido acetoacético es convertido nuevamente en acetoacetyl-CoA mediante la enzima succinil-CoA-ácido acetoacético-CoA transferasa. El ácido acetoacético reacciona con la succinil-

CoA, la CoA es transferida formando acetoacetyl-CoA y el succinato queda libre. Finalmente, el acetoacetyl-CoA que se formó es convertido en acetyl-CoA por acción de la tialasa y es oxidada en el ciclo del ácido cítrico (14).

Figura 2. Catabolismo de los cuerpos cetónicos en los tejidos extrahepáticos. Tomada de Baynes y Dominiczac, 2011 (17)



Regulación de la cetogénesis: Los cuerpos cetónicos pueden autorregularse cuando sus concentraciones son elevadas. Esto lo hacen estimulando la liberación de insulina, lo que lleva a que la liberación de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo se disminuya (16). Otra forma en la que la cetogénesis es controlada, es mediante la actividad de la carnitina palmitoil transferasa I, enzima encargada de la entrada de ácidos grasos a la mitocondria. Su actividad es escasa cuando la oxidación de ácidos grasos está disminuida, y aumenta cuando la oxidación de

ácidos grasos se incrementa, es decir, en ayuno. La actividad de la carnitina, es inhibida por el malonil-CoA (producto intermediario de la biosíntesis de ácidos grasos), el cual aumenta cuando la nutrición que se tiene es apropiada; esta inhibición de la carnitina lleva a un bloqueo de la beta-oxidación. No obstante, en casos de ayuno o inanición, el malonil-CoA disminuye y la carnitina palmitoil transferasa I aumenta su actividad permitiendo que una mayor cantidad de acil-CoA sea beta-oxidada (14).

En esta patología, las concentraciones de BHB en bovinos son mayores a 1200-1400 $\mu\text{mol/L}$ y puede favorecer la aparición de otras complicaciones y manifestaciones clínicas como fiebre de leche, metritis, mastitis, retención de placenta, desplazamiento del abomaso y pobre desempeño reproductivo; además de incrementar el riesgo de presentación de cetosis clínica (7, 12, 13). Las pérdidas económicas se generan por disminución de la producción láctea y trastornos reproductivos como incremento en el período de días abiertos, aumento del número de servicios por concepción, fallas reproductivas a futuro, además de aumentar los sacrificios involuntarios generando mayores costos por la reposición de animales (10).

En bovinos, la movilización de grasas que produce la cetosis subclínica, es debida al balance energético negativo que se da de 2 a 4 semanas antes del parto, donde la vaca aumenta sus requerimientos energéticos por la formación del feto y la producción de calostro; pero disminuye su consumo de materia seca generando un desbalance entre los requerimientos de energía y los aportes del alimento (9).

En el período postparto, las vacas de media y alta producción que presentan BEN, suplen sus requerimientos energéticos necesarios para la producción de leche movilizandando reservas corporales; esa movilización grasa junto a la pérdida de estado corporal, puede mantener más del 30% de la producción lechera durante el primer mes de lactancia (11). Este balance energético negativo no solo se caracteriza por el aumento en los niveles de cuerpos cetónicos, sino también por

una baja en las concentraciones de glucosa y colesterol; este proceso se puede evitar con un adecuado manejo de la dieta, logrando que garantice los nutrientes suficientes para la formación del feto en el último tercio de la gestación y la producción de leche desde el comienzo de la lactancia (18).

Algunos autores mencionan que la cetosis subclínica puede presentarse inclusive hasta la octava semana (19) y ocasionalmente las vacas de lactancia tardía, pueden desarrollarla (cetosis de la preñez), en ambos casos por una excesiva lipólisis debida al detrimento del consumo de materia seca y el incremento de las demandas de energía (13). La sintomatología clínica incluye anorexia, depresión, sintomatología nerviosa que incluye lamido excesivo, perversión del gusto, incoordinación, marcha anormal, aumento en la vocalización y en algunas ocasiones agresividad; otros signos pueden ser ceguera, heces duras y secas, pérdida progresiva de la condición corporal, disminución de la producción de leche (hasta un 25%) con un aumento en la concentración de grasa (19, 20).

Los cuerpos cetónicos pueden ser medidos en sangre, suero, leche u orina. La determinación de BHB en suero se considera la mejor técnica de diagnóstico y monitoreo de la cetosis, debido a la menor sensibilidad y especificidad de otras técnicas (21).

La mayoría de las pruebas de orina y leche usadas en animales están basadas en la habilidad de las cetonas, especialmente el ácido acetoacético para tornarse de un color púrpura al entrar en contacto con el nitroprusiato de sodio (prueba de Rothera)(2). La prueba en leche tiene una sensibilidad del 90% y una especificidad del 96% (2), sin embargo, otros autores mencionan una sensibilidad menor que va de 5% a 44% y una especificidad de 98 a 100% (3) mientras que para orina es de 67% y 100% (4) o según otros autores de 49% a 76% y 96% a 99% respectivamente (2). Por medio de esta reacción no es posible determinar el BHB, por lo general esta cetona se mide en sangre o leche mediante pruebas

enzimáticas basadas en la BHB deshidrogenasa que convierte el BHB en ácido acetoacético (13, 22)

Recientemente se crearon las tiras diagnósticas para la detección de ácido acetoacético en orina demostrando una sensibilidad del 78% y una especificidad del 96% cuando se trata de una cetosis subclínica leve; y una sensibilidad del 49% y especificidad del 99% cuando se trata de una cetosis subclínica moderada (2).

Esta técnica tiene en cuenta que los cuerpos cetónicos son filtrados libremente a nivel renal por los glomérulos, por esta razón cuando el umbral de absorción es bajo, pueden ser hallados en la orina en casos de cetosis (13)

Para la determinación de cetosis subclínica, los valores de BHB en leche y orina en cabras y bovinos son superiores a 1,4 mmol/L, hasta 3mmol/L cuando se da inicio a la forma clínica de la enfermedad (4, 23, 24), aunque otros autores consideran la cetosis subclínica a partir de 1,2 mmol/L o inclusive 1,0 mmol/L(19, 20, 25). Se recomienda hacer la medición de los cuerpos cetónicos entre los días 3 a 14 posparto (21).

La prevalencia reportada en un estudios realizados en Norteamérica para la cetosis subclínica está en un rango de 7% a 34%, siendo en los primeros 65 días de lactancia de 12,1% a 14,1% (20).

La prueba de Roche (Keto-Diabur-Test 5000®), utilizada en este trabajo, detecta las cetonas presentes en la orina (ácido acetoacético y acetona) cuando estas entran en contacto con nitroprusiato de sodio y glicina en un medio alcalino, dándole un color púrpura a las tiras reactivas. Esta prueba es más específica para la detección del ácido acetoacético, teniendo como límite inferior 5mg/dL (0,5mmol/L); mientras que para la acetona, el límite inferior es 40mg/dL (7mmol/L) (6). Las tiras reactivas son analizadas mediante el lector digital Urisys 1100®, un fotómetro de reflexión que evalúa los resultados de las pruebas de Roche bajo condiciones estándar (5).

Técnicas para la determinación de la condición corporal

La condición o estado corporal, es un indicador de la cantidad de grasa subcutánea almacenada por un animal. Esta se evalúa mediante la observación y/o palpación de la región lumbar, región caudal, región pélvica y región del costillar. Existen múltiples modelos que permiten llevar a cabo esta evaluación; los más relevantes son el modelo británico, el modelo norteamericano y el modelo francés (26).

Modelo británico: Las primeras técnicas de medición corporal fueron diseñadas en 1976 y replanteada en 1977, ambos fueron citados en la revisión bibliográfica realizada por Álvarez en 1999 (26). Este sistema da una calificación de 0 a 5 después de hacer una palpación de la región lumbar y caudal.

Modelo norteamericano: Dentro de este modelo, existen tres técnicas. La primera fue diseñada por Wildman y col (27), en la que a través de la observación y palpación de la región lumbar, pélvica y caudal se da una calificación de 1 a 5, donde 1 es una vaca extremadamente flaca y 5 es una vaca obesa (anexo 1).

La segunda técnica fue diseñada por Edmonson y col (28), en la que se da también una calificación de 1 a 5 y agrega unas fracciones intermedias de 0,25. Se diferencia de la técnica de Wildman en que esta evaluación se hace únicamente mediante la exploración visual de la región lumbar, pélvica y caudal.

La tercera técnica fue diseñada por Ferguson y col (29). Esta da una puntuación de 2 a 4,5 (también con fracciones intermedias de 0,25) a partir de la observación de distintas zonas corporales localizadas entre las regiones lumbar, pélvica y caudal (anexo 2).

Modelo francés: Este modelo da una calificación de 0 a 5. Plantea una evaluación visual, primero del tercio posterior y luego del costado del animal, sin dejar de lado totalmente la palpación. En el tercio posterior se analiza la base de la cola y punta de las nalgas, el ligamento sacro-tuberal y fosa isquio-rectal, y la

espina dorsal. En el costado se observan y se evalúan la tuberosidad coxal y las apófisis transversas y espinosas de las vértebras lumbares (26) (anexo 3).

Materiales y métodos

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Tecnológica de Pereira según acta No. 09 punto 04 numeral 07, del 01 de junio de 2015.

Ubicación

La medición se llevó a cabo en la hacienda Asturias, empresa ganadera especializada en la producción de leche ubicada en el municipio de Pereira en el corregimiento de La Estrella - La Palmilla, vereda el Aguacate en el kilómetro 10 vía Pereira-Alcalá, perteneciente al departamento de Risaralda; a una altitud de 1.250 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura media anual de 23° C y precipitación media anual de 2.750 mm.

Animales

Se evaluaron 30 vacas de diferente tipo racial seleccionadas al azar, con una edad promedio de 5 años, las cuales se encontraban próximas al parto.

Condición corporal

A cada vaca se le determinó su condición corporal en una escala de 1 a 5, donde 1 es extremadamente flaca y 5 es obesa, según el método antes descrito de Ferguson y col. (1994), esta determinación fue realizada en todos los casos, por la veterinaria a cargo de la finca, para evitar de esta manera diferencias en la apreciación. Se llevó registro fotográfico de la condición corporal por animal.

Determinación de ácido acetoacético

La determinación de ácido acetoacético se realizó en muestras de orina en la segunda semana posterior al parto.

La toma de la muestra de orina se realizó en el momento del ordeño por medio de estimulación vulvar y subvulvar (13), teniendo en cuenta la limpieza previa de la zona con agua limpia, con el fin de evitar la caída de partículas indeseables en la

muestra, los animales que no respondieron a la estimulación fueron muestreados por medio de sonda uretral. Se tomaron 50 ml de orina por animal en frascos estériles. Los frascos fueron rotulados con la identificación de cada animal. Adicionalmente se registró de cada animal muestreado la edad, el número de partos y tipo racial.

La medición del ácido acetoacético se llevó a cabo en un laboratorio clínico particular por medio de la técnica semicuantitativa de Keto-Diabur-Test de los laboratorios Roche (30). La técnica se vale de tirillas diagnósticas humedecidas con orina, las cuales son pasadas por el lector digital 1100 Urisys® el cual determina en valores numéricos la presencia de ácido acetoacético.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó el test de Saphiro-Wilk y test de Barlett mediante el programa R-proyect.

El tamaño de la muestra se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \cdot Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot (1 - p)}{e^2 \cdot (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot (1 - p)}$$

En donde,

n tamaño de la muestra

N tamaño de la población (150 vacas)

Z nivel de confianza (95%)

P proporción de elementos de la población con la característica

e error estadístico (7%)

Por medio de la cual se estableció un $n=30$ con un error estadístico del 7%. El experimento se realizó teniendo en cuenta un diseño completamente al azar, como se describe a continuación:

$$Y_i = \mu + c_i + E_i + G_i + e_i$$

En donde,

Y_i Corresponde a la medida de cuerpos cetónicos en orina en mg/dL para el animal i

μ Media general

C_i Condición corporal del animal i

E_i Numero de parto de la vaca i , como efecto fijo

G_i Días de parida de la vaca i , como covariable

e_i Error experimental

Se utilizó una frecuencia relativa, ésta fue calculada determinando qué porcentaje de la totalidad de animales fueron positivos a cuerpos cetónicos, mediante la siguiente fórmula:

$$F_i = \frac{n}{N}$$

En donde:

F_i Frecuencia relativa

n número de animales enfermos

N Total de animales evaluados

Para expresar la frecuencia relativa en términos porcentuales, se utilizó la siguiente fórmula:

$$p_i = F_i * 100$$

En donde:

p_i Frecuencia en términos porcentuales

F_i Frecuencia relativa

Anexos

Anexo 1: Técnica de medición de condición corporal diseñada por Wildman y col (27)

PUNTUACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL EN GANADO VACUNO LECHERO TIPO FRISON	
PUNTO 1	Las apófisis espinosas de las vértebras lumbares se palpan puntiagudas y se observan en modo de cresta y las apófisis transversas se muestran de igual manera pero con mayor marcación en la fosa paralumbar; La presencia de tejidos en las tuberosidades coxal e isquiático da el aspecto anguloso y la profundidad de la depresión glútea; La escasa presencia de tejidos alrededor de la base de la cola, conjunto de la tuberosidades isquiáticas y la profunda depresión de la fosa isquion-rectal.
PUNTO 2	La palpación de las apófisis espinosas se sigue mostrando de igual manera pero el efecto cresta ya no se manifiesta tanto, debido a la presencia de tejidos blandos, responsable de la menor profundidad de la fosa paralumbar; las tuberosidades coxal e isquiática se muestran angulosas pero no hay mayor depresión en la región glútea; EL relleno de la depresión isquion-rectal debido a los tejidos alrededor de la base de la cola.
PUNTO 3	Para ser posible la palpación de las vértebras lumbares se debe hacer una presión sobre los tejidos anexos, debido a estos se anula el efecto cresta y a demarcar la fosa paralumbar; las tuberosidades coxal e isquiática se denotan

	redondeadas y una leve depresión glútea y la depresión isquio-rectal no es observada.
PUNTO 4	las vértebras pueden ser palpadas por medio de una leve presión, se observa tejido muscular y grasa en región lumbar, las tuberosidades coxal e isquiática se notan redondeadas, la depresión glútea de apariencia plana y acumulo de tejido graso en la base de la cola
PUNTO 5	No es posible observarse ningunas de las estructuras debido a la acumulación de grasa subcutánea y la base de la cola se encuentra llena de grasa.

Anexo 2: Técnica de medición corporal según Ferguson y col (29).

CALIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL DE VACAS LECHERAS, SEGÚN FERGUSON							
CONDICIÓN CORPORAL	REGIÓN PELVICA			REGIÓN LUMBAR		REGIÓN CAUDAL	
	DEPRESIÓN GLÚTEA *	TUBEROSIDAD ISQUIÁTICA	TUBEROSIDAD COXAL	APÓFISIS ESPINOSAS	APÓFISIS TRANSVERSA	MÚSCULO COXÍGEO	LIGAMENTO SACROTUBERAL
2.00	V	ANGULAR	ANGULAR	PUNTIAGUDAS	VISIBLE >0,5	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
2.25	V	ANGULAR	ANGULAR	PUNTIAGUDAS	VISIBLE >0,25-0,50	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
2.50	V	ANGULAR/REDONDEADA	ANGULAR	REDONDEADAS	VISIBLE >0,25-0,50	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
2.75	V	REDONDEADA	ANGULAR	REDONDEADAS	VISIBLE >0,25-0,50	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
3.00	V	REDONDEADA	REDONDEADA	REDONDEADAS	VISIBLE >0,25-0,50	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
3.25	U	REDONDEADA	REDONDEADA	REDONDEADAS	VISIBLE 0,10	FÁCILMENTE VISIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE
3.50	U	REDONDEADA	REDONDEADA	REDONDEADAS	VISIBLE 0,10	PERCEPTIBLE	FÁCILMENTE VISIBLE

3.75	U	REDONDEADA	REDONDEADA	REDONDEADAS	IMPERCEPTIBLES	Perceptible
4.00	U	REDONDEADA	REDONDEADA	REDONDEADAS	IMPERCEPTIBLES	
4.25	U	REDONDEADA	REDONDEADA	PERCEPTIBLES	IMPERCEPTIBLES	
4.50	PLANA	IMPERCEPTIBLES				
*La depresión glútea se determina según la forma de V o U						

Anexo 3: Modelo francés para la medición de la condición corporal. Tomado de Álvarez, 1999 (26).

CALIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL DE VACAS LECHERAS, SEGÚN EL MODELO FRANCÉS						
CONDICIÓN CORPORAL	5	4	3	2	1	0
CRITERIOS						
Base de la cola puntas de las nalgas	No son perceptibles debido a la grasa depositada	Acúmulo moderado de grasa en las puntas	La base de la cola separada de la cola y una ligera cobertura de grasa en las puntas	Ausencia de grasa por lo tanto se observa claramente las puntas	Se observa toda la tuberosidad isquiática	Visión nítida de la estructura pélvica
Ligamento sacrotuberal fosa caudal	Imperceptible fosa caudal llena de grasa	Ligamento visible y la fosa cubierta de grasa	Visible, grueso y redondeado, la fosa con menor contenido de grasa con forma de V y paredes planas.	Ligamento visible y fosa moderada	Apariencia laminar y fosa profunda	Ligamento laminar y fosa muy profunda

Espina dorsal	Dorso plano o redondeado y no se percibe ninguna estructura ósea	Solo se aprecia la línea dorsal	Línea dorsal visible más elevada que la región lumbar	Línea dorsal marcada con escasa cobertura tisular	Línea dorsal irregular y cuerpos vertebrales inaparentes	Cuerpos vertebrales aparentes
Tuberosidad dorsal	Imperceptible	Se aprecia el íleon por ángulos abiertos	Íleo perceptible y cresta iliaca imperceptible	Íleo más perceptible y cresta imperceptible	Cresta iliaca visible	Cresta iliaca altamente visible
Apófisis transversas y espinosas	Se reconoce alguna estructura ósea, la región lumbar se muestra plana	Columna vertebral reconocible, región lumbar aun visible y se empieza a observar bordes de las apófisis transversas	Espina dorsal bien demarcada, en la región lumbar con contorno oblicuo y los bordes de las apófisis son más visibles.	Espina dorsal más marcada y de aspecto anguloso en las apófisis transversas.	Más acentuación de los rasgos anteriores y puede ser posible contar las apófisis transversas	Línea dorsal irregular, contabilización de apófisis espinosas y se alcanza a diferencias claramente apófisis transversas hasta el cuerpo vertebral

Resultados y discusión

Se incluyeron en el estudio los animales que para la fecha se encontraban cerca al parto, los valores de condición corporal fueron los siguientes:

Imágenes

Primer Lote:

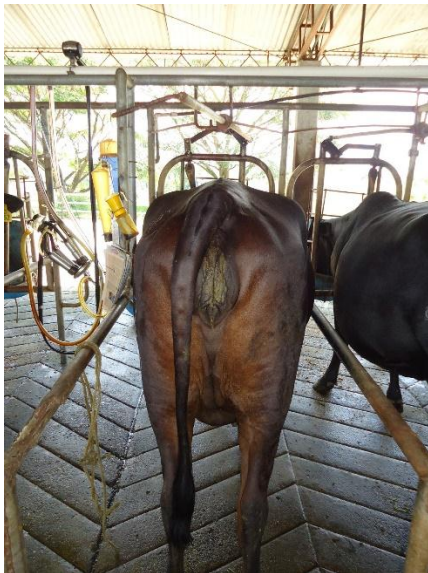
016-10 Preparto CC: 4,5



Posparto CC: 4,0



417-0 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,75



535-1 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,75

Debido a inconvenientes que surgieron en el momento, el registro fotográfico postparto de este animal no pudo ser incluido en el trabajo.

537-1 Preparto CC: 4,0

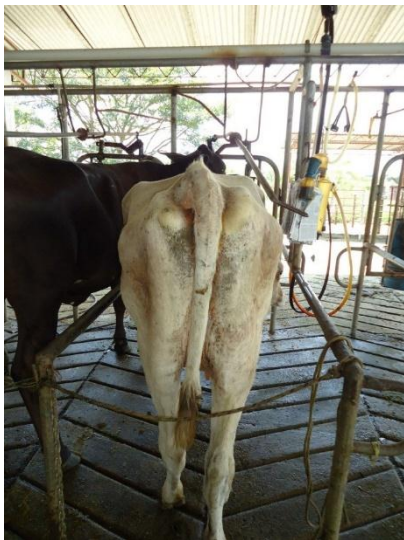


Posparto CC: 3,5



Segundo Lote:

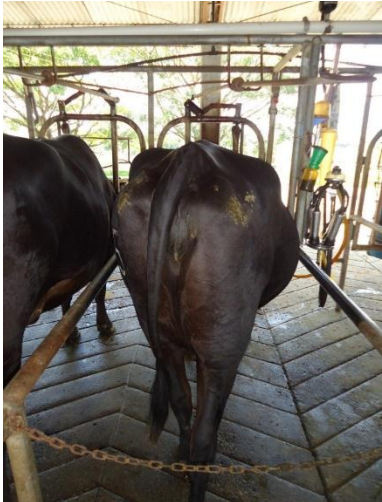
P2 Preparto CC: 3,5



Posparto CC: 3,0



225-8 Preparto CC: 4,5

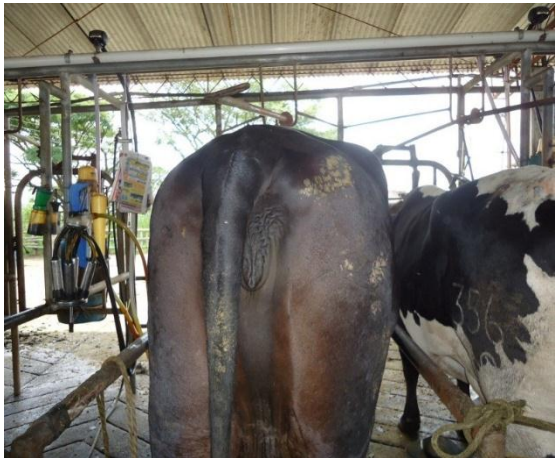


Posparto CC: 4,0



Tercer Lote:

372 Preparto CC: 4,25



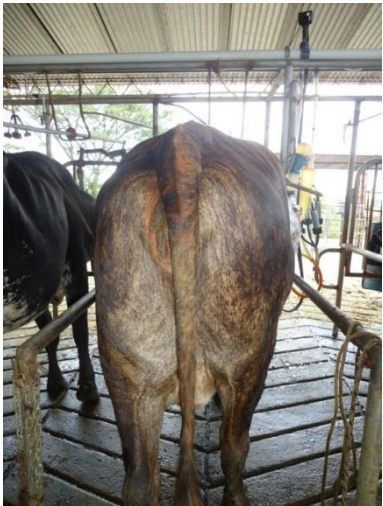
356 Parto CC: 4,5



59-6 Parto CC: 4,0



068-9 Preparto CC: 4,0



Cuarto lote

57-novilla Preparto CC: 3,75



Posparto CC: 3,5



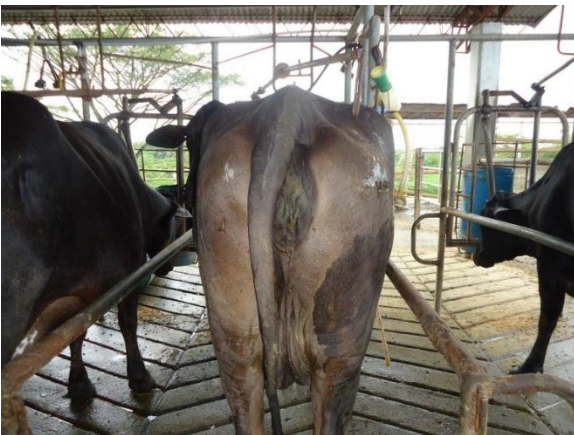
351 Preparto CC: 4,0



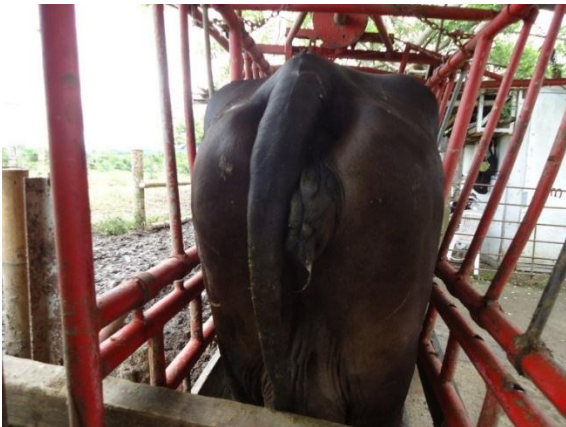
Posparto CC: 3,75



281-8 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,75



2411 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,75



219-8 Preparto CC: 4,25



Posparto CC: 4,0



Quinto lote

648 Preparto CC: 3,75



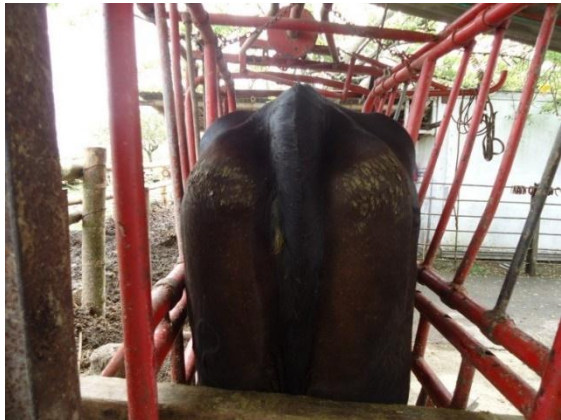
Posparto CC: 4,0



612-0 Preparto CC: 4,25



Posparto CC: 3,5



350-9 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,5



060 Preparto CC: 3,75



Posparto CC: 3,0



75-6 Parto CC: 4,25



Posparto CC: 4,0



Sexto Lote

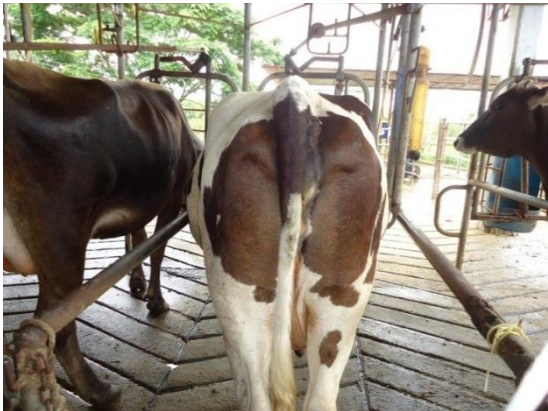
28-6 Preparto CC: 4,5



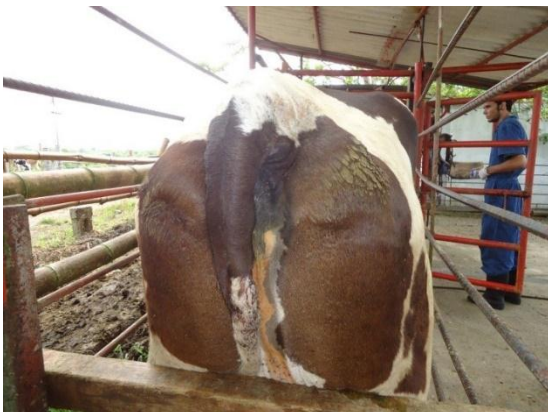
Posparto CC: 3,5



709 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,5



103-7 Preparto CC: 4,5



Posparto CC: 4,0



414 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,5



02-5 Parto CC: 4,0



Posparto CC: 3,5



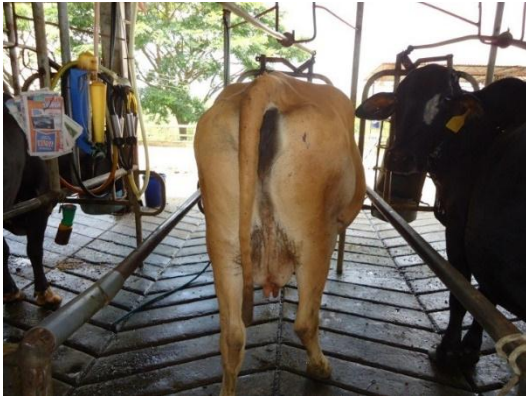
368-9 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 4,0



1107 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,5



Séptimo lote

305-9 Preparto CC: 3,75



Posparto cc: 3,75



42-6 Parto CC: 3,75



Posparto cc: 3,75



436 Preparto CC: 4,0



Posparto CC: 3,75



Niveles de ácido acetoacético en orina

De los 30 animales evaluados solo 7 presentaron algún nivel de ácido acetoacético en orina, los valores variaron desde 8,92 mg/dL hasta 50 mg/dL, como se observa en la tabla número 1.

Tabla 1. Valores en orina de ácido acetoacético en mg/dL.

Numero Animal	CC preparto	Parto actual	CC postparto	Días de parida	Cuerpos cetónicos (mg/dL)
016-10	4,5	1	4,0	13	0
417-0	4,0	1	3,75	13	50
537-1	4,0	1	3,75	9	0
535-1	4,0	1	3,5	14	50
P2	3,5	1	3,0	15	0
225-8	4,5	2	4,0	11	0
372	4,25	1	4,0	9	0
356	4,5	1	4,0	15	0
59-6	4,0	5	3,5	13	26,78
068-0	4,0	2	4,0	11	0
57	3,75	7	3,5	11	8,92
351	4,0	2	3,75	10	0
281-8	4,0	3	3,75	12	0
2411	4,0	2	3,75	9	0
219-8	4,25	3	4,0	15	26,78
648	3,75	1	4,0	10	0
612-0	4,25	1	3,5	15	0
350-9	4,0	3	3,5	11	0
060	3,75	10	3,0	16	0
75-6	4,25	5	4,0	13	0
28-6	4,25	5	3,5	15	0
709	4,25	3	3,5	13	0
103-7	4,0	5	4,0	14	0
414	4,25	3	3,5	15	0
02-5	4,0	4	3,5	13	0
368-9	4,25	3	4,0	15	50
1107	4,0	8	3,5	13	0

305-9	4,0	4	3,75	15	50
42-6	3,75	6	3,75	14	0
436	4,0	2	3,75	11	0

Análisis estadístico

Estadística descriptiva

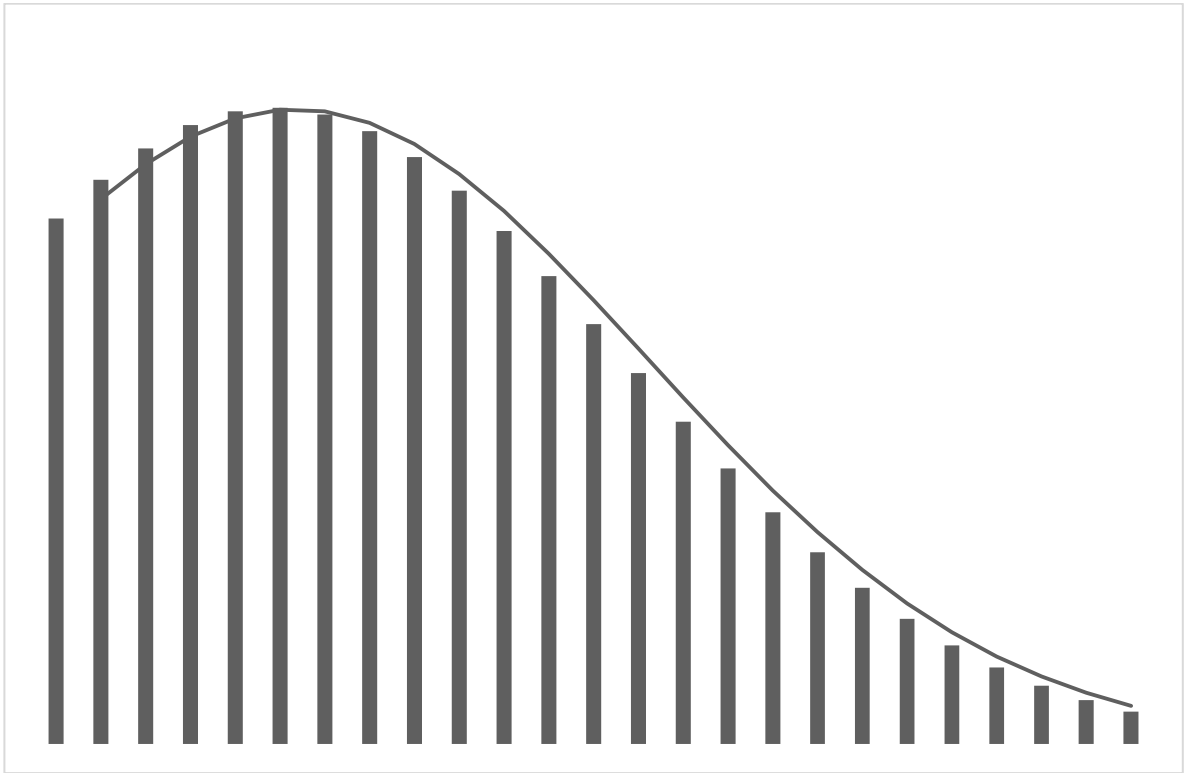
Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa R-project. Los datos obtenidos de condición corporal pre y postparto, número de partos y días de parida tuvieron una distribución normal; por el contrario, los valores de ácido acetoacético tuvieron una distribución no normal (grafica 1), debido a que a la mayoría de animales no se les encontró este cuerpo cetónico en orina. Los valores de la estadística descriptiva de estos factores se muestran en la tabla número 2.

Tabla 2. Mediana, media y desviación estándar de las variables del estudio.

Parámetro	CC preparto	Numero de parto	CC posparto	Días lactancia	Cuerpos cetónicos
Mediana	4,000	3,000	3,750	13,000	0,000
Media	4,067	3,200	3,700	12,767	8,749
Desv Estándar	0,236	2,325	0,282	2,112	17,828

CC= Condición corporal

Grafica 1. Distribución de los datos de cuerpos cetónicos en mg/dL.



Debido a que los datos recolectados en campo no cumplieron con los supuestos de homocedasticidad, normalidad e independencia de los errores, el modelo planteado previamente no pudo ser aplicado a los valores obtenidos y fue necesario aplicar pruebas no paramétricas; la prueba seleccionada para este fin fue la de Kruskal Wallis, la cual determinó que no existía significancia estadística para ninguna de las variables seleccionadas (condición corporal inicial, condición corporal final, diferencia entre condición corporal inicial y final, días de parida y parto actual).

Los resultados obtenidos mostraron que para los animales evaluados y en el momento de la toma de la muestra, existía una frecuencia de cetosis subclínica de 23,3%, este valor se encuentra en un nivel alto con relación a los antecedentes reportados en la literatura, en donde se citan prevalencias del 7% al 41% (19), del 6,9% al 14,1%(2, 7), del 2% al 15% (4), del 10,3% (31) y del 26,4% (7).

Este resultado se relaciona con la movilización grasa a la cual se vieron sometidos los animales al iniciar la lactancia, teniendo en cuenta que la mayoría llegó al parto con condición corporal igual o mayor de 4,0, y en la segunda semana de lactancia, momento en el que se tomó la muestra, presentaron pérdida de la condición corporal cercana a 0,4 puntos (tabla 3).

Aunque algunos autores mencionan que las vacas con componente racial Brahman no sufren cambios tan drásticos en su condición corporal como otras razas Taurus (18, 32), es importante tener en cuenta que cuando las vacas lecheras llegan al parto con una condición corporal por encima 3,5 o de 3,75 en novillas; se presenta mayor depresión en su consumo de alimento al inicio de la lactancia, lo que estimula la movilización de grasas empeorando su balance energético negativo (11).

Con relación a esto, se ha reportado que las vacas con una condición corporal preparto mayor o igual a 3,75 tienen 5,25 veces más riesgo de presentar cetosis subclínica que las vacas de condición corporal preparto menor o igual a 3,5 (31); otros estudios demostraron que las vacas con una condición corporal preparto moderada (3,25–3,75) y vacas con una condición corporal mayor ($\geq 4,0$) tuvieron 1,5 y 2,7 veces más riesgo de presentar cetosis subclínica respectivamente, en comparación con vacas consideradas flacas ($\leq 3,0$) (33).

Según reportes de literatura, los cuerpos cetónicos pueden ser detectados en diferentes momentos por medio de las pruebas diagnósticas, algunos autores mencionan que entre los 4 y 19 días postparto (31), otros que durante la segunda semana postparto (1, 2), a los 40 días postparto (34) o hasta los 2 primeros meses de lactancia (1, 7).

En un estudio en el que se tomaron muestras de orina, leche y sangre para el diagnóstico de cetosis subclínica (13), la mayoría de las vacas muestreadas presentaron la enfermedad durante la segunda semana postparto; además reportan que cuando aumentan las concentraciones plasmáticas de BHB, también

lo hacen las concentraciones de ácido acetoacético y acetona. A su vez, otro estudio (35) mencionó que una concentración plasmática de BHB de 1,5 mmol/L parece intervenir en la formación y excreción de ácido acetoacético en orina, indicando que un resultado positivo en pruebas urinarias de cetonas puede deberse al aumento plasmático de BHB.

Con relación a lo anterior, es probable que se detectaran más animales positivos, que eliminaran este cuerpo cetónico en diferentes momentos de su periodo postparto, de haber sido posible la toma de muestras consecutivas durante un mayor período de tiempo desde la primera semana de lactancia.

Tabla 3. Media, mediana y desviación estándar de la diferencia entre la CC preparto y la CC postparto

Media	Mediana	Desviación estándar
0,36	0,25	0,24

CC: Condición corporal.

Esta idea se ve reforzada, teniendo en cuenta las características de la prueba utilizada, donde la sensibilidad es de 78% para cetosis subclínica leve y 49% para cetosis subclínica moderada, además de una especificidad de 96% en cetosis subclínica leve y 99% en cetosis subclínica moderada, lo cual puede sugerir la existencia de más vacas positivas a ácido acetoacético en orina de las que realmente fueron determinadas por la prueba.

Si bien no se encontró una relación estadística entre el cambio de la condición corporal en los animales y la presencia de cuerpos cetónicos en orina, este resultado también pudo tener relación con los limitantes encontrados en la prueba diagnóstica y el hecho de que esta fuera determinada en un único momento de la lactancia.

Por lo tanto, para investigaciones futuras, con el fin de mejorar la determinación de cuerpos cetónicos, se hace indispensable contar en la región con mejores métodos diagnósticos como el análisis sanguíneo de BHB, ya que ésta es la prueba estándar para diagnosticar la enfermedad, o la posibilidad de evaluar las concentraciones sanguíneas de NEFA citadas por varios estudios para el diagnóstico de BEN (13, 20, 36) y evitar así trastornos metabólicos más graves.

Se debe entonces seguir investigando acerca de la frecuencia y prevalencia de esta enfermedad en el municipio de Pereira y en Risaralda, ya que al ser este un estudio limitado solo a un hatos, no tiene una significancia estadística importante. Sin embargo, cobra importancia al ser el primer estudio que se realiza sobre cetosis subclínica en la región, por lo que sería de utilidad realizar más estudios en diferentes hatos para establecer parámetros respecto a la enfermedad que puedan ser tenidos en cuenta por los distintos productores de la región.

Con el objetivo de que los futuros trabajos sean más completos, estos deberán incluir más parámetros metabólicos a evaluar además del ácido acetoacético en orina (BHB sanguíneo, BHB en leche, NEFA plasmático), disponibilidad de mejores pruebas diagnósticas y por último más hatos objeto de estudio, por ende, un mayor tamaño de muestra.

Finalmente, se recomienda evitar condiciones corporales mayores a 3,5 al momento del parto ofreciendo una dieta los primeros 30 días de secado con una densidad energética moderada (1,25 Mcal ENL/kg MS) y aumentar esta densidad 20 días antes del parto (1,52 - 1,54 Mcal ENL/kg MS) ayudando así a los animales a recuperar su capacidad de consumo de alimento, disminuir la pérdida de condición corporal y recuperar sus reservas corporales para la próxima lactancia (11).

Referencias Bibliográficas

1. Mainar F, De La Roza-Delgado B, Argamenteria Gutiérrez A, Rodríguez M, Peláez M. Cetosis subclínica. Incidencia en explotaciones lecheras de Asturias. *Tecnología agroalimentaria*. 2008;5°:28-31.
2. Carrier J, Stewart S, Godden S, Fetrow J, Rapnicki P. Evaluation and Use of Three Cowside Tests for Detection of Subclinical Ketosis in Early Postpartum Cows. *Journal of Dairy Science*. 2004;87(11):3725-35.
3. Geishauser T, Leslie K, Tenhag J, Bashiri A. Evaluation of Eight Cow-Side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 2000;83(2):296-9.
4. Nielen M, Aarts MG, Jonkers AG, Wensing T, H SY. Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal*. 1994;35(4):229-32.
5. Diagnostics R. Urisys 1100® operator's manual.: Roche Diagnostics Corporation; 2008. p. 31.
6. Hohenberger EF, Kimling H. Compendium. Urinalysis with Test Strips. In: Diagnostics R, editor. 2004. p. 107.
7. Heuwieser W. Equilibrio energético negativo y cetosis subclínica y su relación con la salud y reproducción de los animales. ¿Qué se puede hacer en la práctica? XVII Congreso internacional ANEMBE de medicina bovina 2012.
8. <http://www.fedegan.org.co/>: FEDEGAN; 2015 [updated 30/03/2015; cited 2013 18/11]. Available from: <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/precios>.
9. Fernández G. El periodo de transición en la vaca lechera. Seminario avanzado de investigación; Cajamarca, Perú 2009.
10. Díaz Rocha MT, Tovar Luna I. Efecto de la cetosis subclínica postparto en la eficiencia reproductiva en vacas holstein fresian de la comarca lagunera. *Chapingo*. 2005;4:41 - 6.
11. Grigera J, Bargo F. Evaluación del estado corporal en vacas lecheras El sitio de la producción animal 2005. Available from: <http://www.produccion-animal.com.ar/>.
12. Osorio JH, Vinazco J. EL METABOLISMO LIPÍDICO BOVINO Y SU RELACIÓN CON LA DIETA, CONDICIÓN CORPORAL, ESTADO PRODUCTIVO Y PATOLOGÍAS ASOCIADAS. *Biosalud*. 2010;9:56-66.
13. Cucunubo LGS-B, Clarissa; Wittwer, Fernando; Noro, Mirela. Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. *Revista científica*. 2013;XXIII:111-9.

14. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kenelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper. Bioquímica ilustrada. 28 ed 2010. 184-92 p.
15. Hermosilla Daza CP. Concentraciones de indicadores séricos del metabolismo de energía y proteína de vacas lecheras en pastoreo primaveral con diferentes ofertas de pradera y concentrado: Universidad Austral de Chile; 2010.
16. Pacheco Leal D. Bioquímica médica 2004. 390-2 p.
17. Baynes JW, Dominiczak MH. Bioquímica médica. 3 ed 2011. 189-91 p.
18. Villa NA, Osorio JM, Escobar D, Ceballos A. Indicadores bioquímicos del balance energético en el periparto de vacas Brahman en pastoreo en el trópico colombiano. FCV-LUZ. 2011;XXI, N°4:353-9.
19. Zhigang Z, Guowen L, Wang H, Xiaobing L, Zhe W. Detection of subclinical ketosis in dairy cows. Pakistan Veterinary Journal. 2011;32(2):156-60.
20. Leslie K, Duffield T, LeBlanc S. Monitoring and Managing Energy Balance in the Transition Dairy Cow Department of Population Medicine University of Guelph 101-7]. Available from: http://www.cvm.umn.edu/dairy/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/documents/asset/cvm_33570.pdf.
21. Herdt TH. The Merck Veterinary Manual 2011. Available from: http://www.merckmanuals.com/vet/metabolic_disorders/ketosis_in_cattle_acetone_mia_ketonemia/overview_of_ketosis_in_cattle.html.
22. Thrall MA, Weiser G, Allison R, Campbell TW. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry: Wiley-Blackwell; 2012. Available from: http://books.google.com.co/books?id=jhYsxqUFGwoC&pg=PA344&lpg=PA344&dq=beta-hydroxybutyrate+urine+cows+value&source=bl&ots=TD2dhQ-C2h&sig=IAPWrW0JJk3LIAPTQwUnV4WA9M&hl=es&sa=X&ei=Lwl1Up_yDLPHsASSwoCwBg&ved=0CFwQ6AEwBjgU#v=onepage&q&f=false.
23. Garrett R O. Herd-Level Ketosis – Diagnosis and Risk Factors. Preconference Seminar 7C: Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting In: Practitioners AAob, editor. 40th Annual Conference of American Association of bovine Practitioners; University of Wisconsin, School of Veterinary Medicine: University of Wisconsin, School of Veterinary Medicine; 2007. p. 67-91.
24. Sahinduran S, Sezer K, Buyukoglu T, Albay MK, Karakurum MC. Evaluation of Some Haematological and Biochemical Parameters Before and After Treatment in Cows with Ketosis and Comparison of Different Treatment Methods. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2010;9(2):266-71.

25. Galvão KN, Vieira Neto A, Peña G, Bittar J, Ibarbia L. Comparing the Urine Ketone Strip Test and the Handheld Ketone Meter to Diagnose Ketosis in Early Lactation Dairy Cows. University of Florida. 2013(186).
26. Alvarez Nogal PJ. La evaluación de la condición corporal como metodología preferente para la estimación del estado de engrasamiento en vacas lecheras. Investigación agraria Producción y sanidad animales [Internet]. 1999; 14(1-3):[51-70 pp.]. Available from: http://www.inia.es/gcontrec/pub/05.P.J.ALVAREZ_1048154881812.pdf.
27. Wildman EE, Jones GM, Wagner PE, Boman RL. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. Journal of Dairy Science. 1982;65 (3):495-501.
28. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. Journal of Dairy Science. 1989;72 (1):68-78.
29. Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. Principal descriptors of body condition score in holstein cows. Journal of Dairy Science. 1994;77 (9):2695-703.
30. Accu-Chek. Keto-Diabur-Test 2013. Available from: http://www.accu-chek.com.uy/cetonuria_ficha.html.
31. Garro CJ, Mian L, Cobos Roldan M. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. Journal of animal physiology and animal nutrition. 2014;98(5):838-44.
32. Giraldo Salazar LF, Loaiza Echeverri AM, Botero SÁ, Uribe Velásquez LF. Parámetros metabólicos séricos y condición corporal durante el pre y posparto en vacas Brahman: Serum Metabolic Parameters and Body Condition During Pre and Postpartum in Brahman Cows. Revista Científica. 2009;19:350-5.
33. Vanholder T, Papen J, Bemers R, Vertenten G, Berge ACB. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. Journal of Dairy Science. 2015;98(2):880-8.
34. Compton CW, McDougall S, Young L, Bryan MA. Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasture-grazed dairy cows in New Zealand in early lactation. New Zealand veterinary journal. 2014;62(1):30-7.
35. Larsen M, Kristensen NB. Effect of a lucerne feeding strategy in the first week postpartum on feed intake and ketone body profiles in blood plasma, urine, and milk in Holstein cows. Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences. 2010;60(4):239-49.
36. Leblanc S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. Journal of Reproduction and Development. 2010;56(SUPPL.):S29-S35.

