



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**MAESTRIA EN REPRODUCCION ANIMAL**

**Tema:**

**“La concentración de betahidroxibutirato (BHB) sanguíneo como predictor de la ciclicidad y el anestro de vacas lecheras posparto, en pastoreo”**

**Tesis previa a la obtención del título de Magister en reproducción animal.**

**AUTOR: MVZ. Víctor Manuel Lema Guamán.**

**CI.0302092416.**

**DIRECTOR: Dr. Jaime Eduardo Maldonado Rivera. MSc.**

**CL.0103631248**

**CUENCA, ECUADOR**

**2017**



## RESUMEN

El proyecto se realizó en la hacienda la Esmeralda en el Cantón Biblián, provincia del Cañar. El objetivo de esta investigación fue evaluar los niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) sérico en vacas post parto para determinar su relación con la actividad ovárica mediante ecografía y establecer su utilización como indicador predictor del anestro. Se empleó 40 vacas en periodo de transición, clínicamente sanas, con similares condiciones de manejo y alimentación. La medición de BHB se realizó a los 7, 14, 21 y 28 días postparto (DPP). La actividad ovárica se evaluó mediante ultrasonografía a los 21, 28 y 35 DPP. El análisis estadístico fue realizado mediante pruebas de Chi-cuadrado, coeficiente de correlación de Tau\_b de Kendall y la curva de ROC. Los resultados mostraron que no existe dependencia entre el tipo de anestro y la concentración de BHB, sin embargo las mayores concentraciones de este metabolito se hallaron en los anestros de tipo III y IV. Se concluye que la concentración de BHB tiene bajo poder de predicción del estado reproductivo de las vacas así como del tipo de anestro presente en los animales hasta el día 35 posparto.

Palabras Claves:  $\beta$ -hidroxibutirato, anestro, actividad ovárica.



## ABSTRACT

The project was carried out at “LA Esmeralda” farm of the Biblián city, Cañar province. The aim of this research was to establish if is possible to use the blood concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) of dairy cows as a predictor of postpartum ovarian activity (cyclicity and anestrus). We used 40 cows in transition period, clinically healthy, with similar condition of handling and feeding. BHB measurement was performed at 7, 14, 21, 28 and 35 pospartum days (DPP). Ovarian activity was assessed by ultrasonography at 21, 28 and 35 DPP. Statistics assay was performed using Chi-squarer test, correlation coefficient of Kendall’s Tau\_b and the ROC curve. The result showed that there is not dependence between the type of anestrus and BHB’s concentration, however the highest concentration of this metabolite were found in type III and IV anestrus. We concluded that the concentration of BHB has low predictive power of the reproductive status of the cows as well as the type of anestrus present in the animals up to 35 DPP.

Key Words:  $\beta$ -hydroxybutyrate, BHB, anestrus, ovarian activity.



## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	2
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	6
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA .....	11
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	12
<b>1.1. Hipótesis</b> .....	13
<b>1.2. Objetivo general</b> .....	14
<b>1.3. Objetivos específicos</b> .....	14
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	15
<b>2.1. Periodo de transición</b> .....	15
<b>2.1.1. Nutrición y condición corporal en el periodo de transición</b> .....	15
<b>2.1.2. Cambios metabólicos y fisiológicos durante el periodo de transición</b> .....	16
<b>2.2. Puerperio y reinicio de la actividad ovárica</b> .....	18
2.2.1. Actividad Ovárica Posparto.....	19
2.3. Anestro Post Parto.....	19
<b>2.3.1. Tipos de Anestro</b> .....	20
<b>2.4. Balance Energético Negativo o BEN</b> .....	21
<b>2.4.1. Adaptación al balance energético negativo</b> .....	22
<b>2.5. Metabolismo de los lípidos</b> .....	23
<b>2.5.1. Lipogénesis y lipólisis</b> .....	23
<b>2.5.2. Efectos de la movilización del tejido adiposo</b> .....	24
<b>2.6. Indicadores metabólicos del estado energético de la vaca lechera</b> .....	25
<b>2.6.1. Glucosa</b> .....	25
<b>2.6.2. Ácidos grasos libres (NEFA) y triglicéridos</b> .....	25
<b>2.6.3. Colesterol</b> .....	26
<b>2.6.4. <math>\beta</math>-hidroxibutirato</b> .....	26
2.7. Importancia del análisis del BHB y NEFAS.....	26
<b>2.8. Determinación de BHB en sangre</b> .....	28
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	29



3.1. Materiales.....	29
<b>3.1.1. Físicos.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.2. Químicos.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.3. Biológicos.....</b>	<b>29</b>
3.2. Métodos.....	30
<b>3.2.1. Ubicación de la investigación.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.2. Caracterización de la Unidad de Análisis.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.3. Descripción del medidor de BHB.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.4. Metodología de trabajo.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.5. Recolección de datos.....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.6. Variables de estudio.....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.7. Presentación y Análisis estadístico.....</b>	<b>32</b>
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	33
CAPITULO V: DISCUSIÓN.....	36
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39
ANEXOS.....	45



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de $\beta$ -Hidroxibutirato en sangre en los diferentes días posparto (DPP) en todas las vacas. ....	33
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----



## LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1 Curva de ROC elaborada con los datos de la concentración de BHB en los diferentes días planteados.....	35
Figura N° 2 Procedimiento pasó a paso del uso del medidor portátil BHBCheck.....	37



## CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Víctor Manuel Lema Guamán en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “La concentración de betahidroxitirato (BHB) sanguíneo como predictor de la ciclicidad y el anestro de vacas lecheras posparto, en pastoreo”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca 20 de septiembre del 2017

---

Víctor Manuel Lema Guamán

C.I: 0302092416



## CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Víctor Manuel Lema Guamán, autor/a del trabajo de titulación “La concentración de betahidroxibutirato (BHB) sanguíneo como predictor de la ciclicidad y el anestro de vacas lecheras posparto, en pastoreo”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca 20 de septiembre del 2017

---

Víctor Manuel Lema Guamán

C.I: 0302092416



## AGRADECIMIENTOS

Un eterno agradecimiento a mi director Dr. Jaime Maldonado. MSc., por brindar su capacidad y experiencia científica hacia el desarrollo de mi trabajo de investigación.

A mis padres Segundo José Lema Guamán y Carmen Amelia Guamán Zhinin quienes fueron un pilar fundamental para ser un profesional en el área de Medicina Veterinaria.

A mis hermanos Cecilia, Blanca, Flor, Iván, Janeth, Johana quienes fueron los que siempre dieron un apoyo hace la culminación de mi trabajo de investigación.

Víctor Lema.



## DEDICATORIA

A Dios y mis padres Segundo José Lema Guamán y Carmen Amelia Guamán quienes fueron el apoyo incondicional para poder lograr este objetivo.

A mi hija Fernandita quien es la inspiración de lucha y esfuerzo para alcanzar todas las metas planteadas.

Víctor Lema.



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

**AGNE:** Ácidos grasos no esterificados

**AGV:** Ácidos grasos volátiles

**AO:** Actividad Ovárica.

**ATP:** Adenosin tri-fosfato

**BEN:** Balance energético negativo.

**BHB:**  $\beta$ -hidroxibutirato

**CC:** Condición corporal.

**CMS:** Consumo de materia seca.

**DPP:** Días post-parto.

**ENL:** Energía Neta de lactancia

**GH:** Hormona de crecimiento

**GPS:** Equipo de geoposición satelital

**IGF:** Factor de Crecimiento típico Insulinico.

**LH:** Hormona Luteinizante.

**Mcal:** Mega calorías

**MS:** Materia Seca.

**NEFA:** Non esterificated fat acids

**ROS:** Especies reactivas de oxígeno

**VLDL:** Lipoproteinas de muy baja densidad

**ROC:** receiver operating characteristic curve



## CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

Las pasturas son la base alimenticia de las ganaderías en el Ecuador cuyo aporte nutricional varía de acuerdo al estado de madurez y la especie vegetal; además, la ingesta diaria de pastos está supeditada a factores ambientales y de manejo. En estas condiciones la posibilidad de que la vaca lechera experimente un desbalance energético en el posparto temprano se amplía enormemente comprometiendo su desempeño reproductivo (Balarezo et al., 2016). El efecto principal del desbalance energético en la vaca lechera posparto se refleja en una variedad de desórdenes metabólicos en la lactación temprana que afectan la producción de leche y sobretodo la fertilidad (Dórea et al., 2017) lo que se traduce en estados de anestro, celos silentes, celos de corta duración (Jaureguiberry et al., 2015), ciclos irregulares y otras situaciones no deseadas que afectan el performance reproductivo.

Con indicadores de campo como la condición corporal, no es posible establecer de manera objetiva el desbalance de energía y su relación con la frecuencia y las características de los disturbios reproductivos del postparto (Lomander et al., 2012); sin embargo, es posible medir el grado de desbalance energético por medio del metabolito  $\beta$ -Hidroxibutirato sérico (Esposito et al., 2013; McArt, et al., 2013; Leblanc, 2010), test que por falta de actualización de conocimientos es ignorado por un buen número de profesionales de la rama sin que se adopte en los hatos lecheros de nuestra región.

En las explotaciones lecheras el objetivo reproductivo es alcanzar un intervalo entre partos entre los 12 a 13 meses (Hincapié et al., 2008) es por ello que las vacas deben preñarse entre los 90 y 120 días posparto para lo cual tendría que haber un restablecimiento normal de la estructura y funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero para que reinicie sus ciclos estrales con una ovulación efectiva siendo necesario priorizar el manejo de la alimentación en el periodo de transición (Ramírez, 2011).



El periodo de transición se caracteriza por una disminución del consumo de alimento tres o cuatro semanas antes del parto y que cuya recuperación se produce tres a cuatro semanas después del parto (Beñaldo & Nuñez, 2012); a pesar de que en esta etapa se muestran una alta demanda energética, no está siendo cubierta por los esquemas de alimentación adoptados por nuestras ganaderías promoviendo la presentación de desórdenes metabólicos y nutricionales que van a repercutir significativamente la eficiencia reproductiva (Fernández, 2009).

El manejo de la vaca en periodo de transición tiene como fin reducir los desórdenes que se generan por el desbalance energético en el periparto y que afectan la eficiencia reproductiva del hato. A pesar que existe este precepto, muchas fincas no se enfocan en el manejo preventivo y optan por controlar el problema en el momento en que éste aparece (Risco, 2009).

Aunque se conocen ampliamente las situaciones críticas por las que las vacas en posparto atraviesan, al igual que las diferentes estrategias existentes para contrarrestar los efectos negativos de estos sucesos; en nuestro medio -bajo las condiciones de manejo y nutrición existentes y donde se desarrolla la ganadería lechera la información sobre la concentración sanguínea de BHB en vacas en periodo de transición y su influencia sobre la actividad ovárica en el postparto temprano es limitada, por lo que se intentó emplear este metabolito como una herramienta predictiva de la ciclicidad y situaciones de anestro en vacas en posparto temprano.

### **1.1. Hipótesis**

Los diferentes niveles de concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) en sangre permiten reconocer el tipo de anestro posparto más frecuente.



## 1.2. Objetivo general

Relacionar los diferentes niveles de BHB en sangre como un factor predictor para determinar si existe afectación ovárica que es causa de anestro post parto en vacas lecheras.

## 1.3. Objetivos específicos

- Evaluar los niveles de BHB sérico en vacas post parto para determinar su relación con la actividad ovárica mediante ecografía.
- Valorar la capacidad de los indicadores de BHB para predecir el riesgo de presentación de Anestro post parto.



## **CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Periodo de transición**

El periodo de transición es considerado como el tiempo que transcurre desde tres semanas preparto hasta tres semanas posparto en donde ocurren modificaciones endocrinológicas dramáticas en la hembra bovina en el periparto y en la lactogénesis (Cavestany et al., 2006; Baek, 2012). Durante este periodo el animal debe adaptarse a las nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas (Ha, et al., 2017) que le exigen el paso de un estado de gravidez y sin producir leche a un estado de no grávida y produciendo leche en cantidades considerables (Baek, 2012).

En este periodo también se genera cambios en el sistema digestivo que son procesos de adaptación que al fallar generan alteraciones productivas y patológicas del periparto como la cetosis, desplazamiento abomasal, retención de placenta, mastitis, metritis, hipocalcemia, la reducción de la producción y rendimiento reproductivo disminuido (Calsamiglia, 2000).

#### **2.1.1. Nutrición y condición corporal en el periodo de transición.**

Los cambios hormonales y físicos que se dan en la vaca en transición reducen el consumo de alimento en un momento en el que las necesidades exigen mayor glucosa circulante, más demanda tisular de amino-ácidos, más demanda de ácidos grasos de cadena larga y mayor cantidad de calcio intercambiable en las 24 horas posparto (Baek, 2012).

En el periodo de transición uno de los agravantes es la reducción en el consumo de alimentos en las semanas finales de gestación incrementando el requerimiento de nutrientes para soportar el máximo crecimiento fetal y el inicio de la síntesis láctea que al final de la gestación las demandas energéticas son 30 y 50% más que los requerimientos de mantenimiento (Hernández & Díaz, 2011).



Se estima que la condición corporal es una herramienta diagnóstica de la cantidad de reservas corporales de la vaca; sin embargo, la condición corporal al parto en vacas de carácter lechero no debe ser inferior a 2,75 ni superiores a 3,5. Se ha podido observar que cuando las vacas tienen una baja cantidad de reservas corporales existe una gran probabilidad de sufrir enfermedades y desordenes metabólicos, falla reproductiva y reducción en la producción de leche. De igual forma, vacas con excesiva condición corporal tienen dificultades en preñarse así como mayor predisposición a presentar desordenes en el desarrollo de la glándula mamaria, resultando en una baja productividad (Roche J. F., 2006).

La condición corporal al parto y su pérdida al inicio de la lactación afectan directamente la producción de leche, el desempeño reproductivo y la presencia de enfermedades metabólicas posparto. Estudios recomiendan que durante los primeros 30 días posteriores al secado, en una lactancia de 305 días, se debe suministrar dietas balanceadas moderadas en energía (1,25 Mcal ENL/kg MS), mientras que los 20 días anteriores al parto se debe aumentar el suministro energético (1,54 Mcal ENL/kg MS), recomendaciones que tienen limitaciones en los sistemas lecheros pastoriles (Grigera & Bargo, 2005).

### **2.1.2. Cambios metabólicos y fisiológicos durante el periodo de transición.**

El primer cambio al que se enfrenta la vaca enfoca un repentino aumento de requerimientos nutricionales para la producción de leche en el momento en que la ingesta de materia seca y suministro de nutrientes están rezagados a la capacidad del rumen el cual se encuentra con un volumen reducido (Meikle, et al., 2010). Este estado hace que las reservas corporales se movilicen para soportar la producción de leche resultando en un inevitable balance energético negativo (Esposito et al., 2013; Gross et al., 2015).

La inflamación y la desregularizada respuesta inmune son las responsables de los desórdenes metabólicos en la vaca en transición ya que sus mediadores inflamatorios inducen directamente disturbios metabólicos (De Luca, 2010); así también, ciertas hormonas metabólicas y sus receptores alteran su concentración en



el peri-parto, cambios interdependientes ocurren en las hormonas de la vía GH-insulina-IGF-I-glucosa. La demanda de nutrientes en el último período de gestación son, en parte, obtenidos del tejido adiposo y el músculo en un estado de resistencia a la insulina y cuando la sensibilidad a los agentes lipolíticos se ha incrementado dirigiéndose desde las reservas maternas hacia la placenta; luego del parto, la demanda de glucosa conduce a una reducción de la insulina circulante en la lactación temprana al igual que el balance energético negativo (BEN) reduce el IGF-I y eleva las concentraciones de GH que ejerce su acción directa sobre la lipólisis y la gluconeogénesis. Los bajos niveles circulantes de IGF-I, retarda la primera ovulación posparto (Esposito et al., 2013).

Existen varias hormonas que actúan directa o indirectamente en el periparto. La leptina interviene en el balance energético y se correlaciona con la disminución de la condición corporal al final de la preñez y que a su vez está asociada a la primera ovulación posparto (Meikle, et al., 2006); sin embargo, esta hormona permanece con niveles disminuidos aun cuando el balance energético ha mejorado. La progesterona se mantiene elevada en la gestación reduciendo rápidamente al momento del parto acompañado por un transitorio incremento de estrógenos y glucocorticoides. Estos cambios hormonales reducen la ingesta de materia seca y promueve cambios metabólicos que favorecen la movilización de las reservas de grasa (Esposito et al., 2013).

Las demandas metabólicas asociadas con la preñez tardía, parto e iniciación de la lactancia pudieran incrementar las especies reactivas de oxígeno (ROS) e iniciar la peroxidación lipídica y producir daño celular a los tejidos. En el periodo periparto, los niveles circulantes de IgG e IgM declinan, la función de los neutrófilos disminuye, se produce neutrofilia y eosinopenia deteriorando la salud de la vaca debido probablemente a la movilización de la grasa y triglicéridos depositados en las células hepáticas causando daño hepático y disfunción, y reducción en el colesterol de la sangre y lipoproteínas de alta densidad (Esposito et al., 2013).

La inflamación posparto unido al metabolismo celular aumentado, sobre regula la expresión génica inmune y mitocondrial desacoplando e incrementando los



requerimientos energéticos agravando el balance energético negativo mientras que la insuficiencia de carbohidratos incrementa la producción de ácidos grasos no esterificados (NEFA) y cuerpos cetónicos (BHB) en el hígado, que, junto con el BEN contribuyen al desarrollo del hígado graso que es considerado como factor para otros problemas de salud en el peri-parto (Esposito, Irons, Webb, & Chapwanya, 2013); además. Las altas concentraciones de BHB y acetoacetato reducen las tasas de  $\beta$ -oxidación, gluconeogénesis, y el ciclo del ácido cítrico en los hepatocitos (Bobe et al., 2004).

## **2.2. Puerperio y reinicio de la actividad ovárica.**

El reinicio de la ciclicidad ovárica posparto está asociada al balance energético y al tiempo de la primera ovulación. Aunque los mecanismos fisiológicos de la vaca lechera sean similares en los diferentes sistemas de producción, en los sistemas pastoriles las demandas energéticas debidas al pastoreo agravan los grandes cambios que ocurren en este periodo ya que la ingesta de materia seca es más baja e insuficiente para soportar la producción láctea (Meikle, et al., 2010).

Un adecuado estatus nutricional promueve un performance productivo y reproductivo exitoso. La pobre condición corporal de las vacas al parto sufren un desbalance energético el mismo que el animal intenta recuperarlo movilizandoo sus reservas corporales existentes en la grasa corporal, llegando a generar fallas reproductivas como un mayor intervalo posparto-primera ovulación o anestro posparto (Sartori, 2009; Hernández & Díaz, 2011).

El balance energético posparto es afectado por la producción láctea y la ingestión de energía presente en la dieta; la lactancia demanda un mayor gasto energético lo que disminuye la disponibilidad energética para la involución uterina y el reinicio de la actividad cíclica ovárica, situaciones que marcan el final del puerperio. Los problemas de salud y reproductivos en vacas de carácter lechero y en vacas con baja condición corporal se generan en la lactancia temprana y están relacionados con el balance energético negativo, permitiendo que los nutrientes sean dirigidos



para la realización de funciones primordiales como el mantenimiento, lactancia y recuperación de peso sobre la reproducción (Hernández & Díaz, 2011).

### **2.2.1. Actividad Ovárica Posparto.**

La actividad ovárica posparto está relacionada no solo con el consumo de nutrientes y la producción láctea, sino también con la eliminación de la sepsis e involución uterinas, sin esto no se produce el reclutamiento de la primera onda folicular (Motta et al., 2011). La dinámica ovárica posparto presenta desde la primera semana posparto ondas foliculares con o sin formación de folículo dominante que no alcanzan a ovular determinando una actividad ovárica dependiente de la pulsatilidad de LH que esta disminuida en el anestro (Montaño & Ruiz, 2005).

### **2.3. Anestro Post Parto**

El anestro postparto se refiere al período después del parto durante el cual las vacas no muestran señales de conducta estral (Báez & Grajales, 2009) o está reducida desafiando a su detección eficiente (Peter et al., 2009), considerando vacas anéstricas a las que no han ovulado hasta los 44 días posparto (Rhodes et al., 2003). Otros autores señalan que ya una vaca está en estado de anestro posparto cuando no ha entrado en celo luego de transcurridos 60 días posparto en cualquier sistema de producción y tipo de animal (Ramírez, 2011).

La dormancia del desarrollo folicular que prevalece en la preñez avanzada, luego del parto requiere ser remplazado por eventos secuenciales finalizando con el estro, ovulación de folículos saludables y normalización de la función luteal, requisitos para una función reproductiva exitosa en cualquier sistema de producción bovina (Rhodes et al., 2003).

El estado nutricional y el amamantamiento afectan la duración del anestro postparto y están modulados por la raza, edad, número de partos, producción de leche,



presencia del toro, involución uterina, distocias y estado de salud general (Báez, et al. 2009).

### 2.3.1. Tipos de Anestro.

Antiguamente el anestro fue clasificado en: fisiológico y patológico, representados por: ovulación silente, enfermedad quística ovárica, hipofunción ovárica y cuerpo lúteo persistente (Peter et al., 2009). Wiltbank, et al. (2002) establecieron una nueva clasificación del anestro basado en la dinámica folicular ovárica y luteal considerando como clave tres eventos fisiológicos primordiales que se dan en bovinos con condiciones ovulatorias fisiológicas normales y que pueden ser detectados por ultrasonografía durante el desarrollo folicular: 1) Emergencia de la onda folicular con folículos de alrededor 4mm de diámetro; 2) desviación folicular con folículos de alrededor de 9mm de diámetro; y 3) ovulación con folículos de 10 a 20 mm de diámetro.

- **Anestro Tipo I.-** Anovulación con folículos en crecimiento solo hasta la emergencia entre 4 y  $\leq 8$ mm (Wiltbank et al., 2002) referente a ovarios inactivos o estáticos que a la palpación se muestran lisos requiriéndose para su correcto diagnóstico dos ultrasonografías con intervalo de 7 días determinando como atrófica ovárica en el caso de que no presente ningún cambio. Su presentación es asociada a subnutrición y un déficit energético reduciendo el soporte esencial de LH necesarios para continuar el crecimiento folicular y la dominancia (Rhodes et al., 2003; Peter et al., 2009).
- **Anestro Tipo II.-** Anovulación con crecimiento folicular hasta desviación pero no de tamaño ovulatorio. Condición común en vacas de carácter lechero en periodo posparto y con cría al pie. Los signos característicos de esta condición son ovarios pequeños, ausencia de cuerpo lúteo o folículos de tamaño ovulatorio formando un patrón dinámico de onda (Wiltbank et al., 2002). Hay desviación y crecimiento seguido de atresia o regresión con una



emergencia de onda folicular dos o tres días después. Estas vacas tienen pulsatilidad de LH reducida ( $< 1$  por 3 o 4 horas) y muy baja concentración periférica de estradiol (Peter et al., 2009) por el incremento de la sensibilidad al efecto de retroalimentación negativa del estradiol sobre la liberación de gonadotropinas (Rhodes et al., 2003).

- **Anestro Tipo III.-** Anovulación con desarrollo folicular al tamaño de ovulatorio o a tamaños más grandes ( $>25\text{mm}$ ) conocido como quiste folicular (Wiltbank et al., 2002). En este tipo de anestro hay desviación, crecimiento y establecimiento de folículo dominante pero sin ovulación volviéndose una estructura folicular persistente que pudiera suprimir la onda folicular posparto por intervalos de tiempo variados (Peter et al., 2009). Su presentación se asocia con alteraciones de la sensibilidad del hipotálamo al efecto de retroalimentación positiva del estradiol, observando comúnmente en vacas lecheras y está asociado a condiciones de excesiva conducta sexual (Rhodes et al., 2003).
- **Anestro Tipo IV.-** Anovulación en presencia de tejido luteal. A pesar que las vacas con este tipo de problema tienen un cuerpo lúteo persistente, este no es considerado como problema de eficiencia reproductiva (Wiltbank et al., 2002). Un factor contribuyente podría considerarse a la ausencia de un folículo estrogénico dominante a la expectativa de regresión luteal. Al respecto, el estradiol del folículo dominante podría inducir la formación de receptores de oxitocina y producir la liberación pulsátil de  $\text{PGF}_2\alpha$  (Peter et al., 2009).

#### 2.4. Balance Energético Negativo o BEN

El balance energético es la diferencia energética entre las necesidades del animal y los aportes alimentarios. En las últimas semanas de gestación la demanda energética por el desarrollo fetal y la síntesis de calostro aumenta, concomitantemente a esta situación disminuye la ingestión de materia seca dando lugar al balance energético negativo, el cual la vaca intenta compensar el déficit



energético movilizando sus reservas desde la grasa corporal conduciendo a problemas patológicos (cetosis, hígado graso, hipocalcemia, desplazamiento del abomaso) y reproductivos como las enfermedades propias del puerperio como metritis, endometritis (Bicalho et al., 2016) y anestros (Calsamiglia, 2000).

La movilización de las grasas aumenta los ácidos grasos no esterificados (AGNE o NEFA) empleados por el hígado y son empleados como fuente de energía. Cuando la concentración de los NEFAS en la circulación es excesiva se da lugar a la formación de cuerpos cetónicos y triglicéridos en el hígado predisponiendo al animal presentar un estado de cetosis y/o síndrome de hígado graso (Calsamiglia, 2000).

#### **2.4.1. Adaptación al balance energético negativo**

El NEB ocurre cuando las demandas energéticas para la producción de leche no pueden ser obtenidas de la ingesta diaria. Después del parto hay una reducción de la producción de insulina por parte del páncreas lo que reduce la utilización de la glucosa por los órganos sensibles a la insulina (tejido adiposo y músculo). Acoplado con un estado transitorio de resistencia a la insulina, asociado con un incremento en la sensibilidad del tejido adiposo a las catecolaminas y una exuberante respuesta lipolítica, la glándula mamaria emplea la glucosa adicional para la producción de leche (McArt et al., 2013).

En respuesta a la reducción de la glucosa disponible, un incremento en los procesos de lipólisis libera NEFAS a la circulación sanguínea siendo usados como fuente de combustible por varios tejidos como los músculos, glándula mamaria, o captado por el hígado el cual remueve del 15 al 20% de los NEFAS de la sangre pudiendo ser completamente oxidados para proveer energía, parcialmente oxidados para producir cuerpos cetónicos, convertidos en triglicéridos y ser transportados por lipoproteínas de baja densidad para ser transportados hacia el tejido adiposo o almacenados en sí mismo como triglicéridos (McArt et al., 2013).



La concentración de NEFAs y BHB en la sangre son parte de la normal adaptación al balance energético negativo en la lactación temprana. Sin embargo, las concentraciones excesivas de NEFAS o BHB indican un exceso de BEN que se relaciona con la afección de la salud y reducción de la producción, reduciendo también la función inmune y el apetito (Heuwieser, 2012; McArt et al., 2013)

## **2.5. Metabolismo de los lípidos.**

Los rumiantes, a través de la digestión fermentativa microbiana, emplean los carbohidratos estructurales como la celulosa y hemicelulosa y los no estructurales como los almidones y azúcares junto con el nitrógeno no proteico y la proteína presente en los forrajes, esto les permite producir ácidos grasos volátiles o AGV (acetato, butirato y propionato). La glucosa ofrecida por los almidones que escapan de la fermentación bacteriana no cubre los requerimientos energéticos por lo que el hígado se ve comprometido a realizar el proceso de gluconeogénesis a partir del propionato y del glicerol obtenido por la lipólisis del tejido adiposo (Duque et al., 2011).

A pesar de que las reservas de proteína y minerales son utilizadas por la vaca en la lactación temprana, la reserva más importante es el tejido adiposo (Roche, et al., 2009).

### **2.5.1. Lipogénesis y lipólisis.**

Dentro de los adipocitos de los rumiantes, ocurren dos procesos metabólicos continuos, lipólisis y lipogénesis, resultando en una degradación y resintetización constante de los triglicéridos intracelularmente. Cuando los requerimientos de energía son más grandes que los suministros, la tasa de lipólisis excede la tasa de lipogénesis y re-esterificación, y la vaca pierde condición corporal entrando en un balance energético negativo (BEN) y la concentración de NEFAS en la sangre aumentan. Por otro lado, cuando la energía metabolizable suministrada a la vaca



excede los requerimientos, las tasas de lipogénesis y re-esterificación son mayores que las de la lipólisis, y son almacenadas estas reservas incrementando la condición corporal. Esta relación es complicada en la vaca lactante, más aun, porque al disminuir una porción de la energía adicional consumida puede ser usada para la producción de leche si otros nutrientes no son limitados. De la misma manera, la producción de leche puede ser reducida para compensar una reducción del consumo de nutrientes, por consiguiente disponer de los tejidos maternos de reserva (Hills et al., 2015).

### **2.5.2. Efectos de la movilización del tejido adiposo**

La hidrólisis de los triglicéridos del tejido adiposo generan ácidos grasos no esterificados o libres (NEFA) movilizándolos desde la grasa corporal hacia el torrente sanguíneo y transportados al hígado por la albumina sérica. En el hígado, los NEFAS pueden ser reesterificados formando nuevos triglicéridos y exportados en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), todo esto en presencia de glucosa (Kessler et al., 2014; Gross et al., 2015). Sin embargo, otro camino que pueden tomar los NEFAS es convertirse en Acetil-CoA mediante el proceso de  $\beta$ -oxidación que al combinarse con el ácido oxalacético entra en el ciclo de Krebs para producir ATP (Duque et al., 2011).

El metabolismo de las grasas así como la gluconeogénesis necesitan de oxalacetato y cuando se encuentra por debajo de lo que se requiere se genera una competencia entre las dos reacciones ya que al no existir suficiente oxalacetato disponible por falta de precursores (propionato, acetato, glicerol, aminoácidos) o por la demanda de glucosa para la síntesis láctea, el Acetil-CoA no puede ser introducido en el ciclo de Krebs y es convertido en cuerpos cetónicos (acetona, aceto-acetato,  $\beta$ -hidroxibutirato) alterando el estado metabólico cuando sus concentraciones séricas exceden los 0,4mmol/L pudiendo comprometer la gluconeogénesis (Duque et al., 2011).



## 2.6. Indicadores metabólicos del estado energético de la vaca lechera.

El bienestar de las vacas y el beneficio que ellas brindan puede mejorarse sustancialmente al conocer los factores que desencadenan las enfermedades peripartales de la vaca lechera. El estudio de los componentes hematobioquímicos específicos permite evaluar, diagnosticar y prevenir trastornos metabólicos además de conocer el estado nutricional de los animales siendo la glucosa y los lípidos (triglicéridos, NEFAS, colesterol y cuerpos cetónicos especialmente  $\beta$ -hidroxibutirato) los principales metabolitos analizados (Duque et al., 2011).

### 2.6.1. Glucosa.

La glicemia es regulada por un eficiente control endócrino, manteniendo la concentración siempre constante e independiente de factores asociados a la dieta teniendo como referencia 2,5 a 4,6 mmol/l; no obstante, se ha observado animales hipoglucémicos en la lactación temprana probablemente porque no están aptos para enfrentar un déficit energético propio de este período (Duque et al., 2011).

### 2.6.2. Ácidos grasos libres (NEFA) y triglicéridos.

Los AGL como indicador refleja la movilización de las reservas energéticas, sus niveles tienen alta variación durante el día, dependiendo del tiempo que el animal esté sin comer u otros factores ambientales como el estrés (Duque et al., 2011), sin embargo se considera valores normales cuando se encuentran menos de <math>1.0\text{mmol/L}</math> (Mann et al., 2016). En cuanto a los triglicéridos, son el principal componente de los depósitos en el tejido adiposo, la concentración en sangre de triglicéridos disminuye con el déficit energético y a su vez se depositan en el hígado generando su engrasamiento; su concentración varía con la etapa de lactancia según es utilizado por la glándula mamaria (Duque et al., 2011); investigaciones han obtenido un máximo de  $0,22\pm 0,01$  mmol/L tres semanas antes del parto hasta un mínimo de 0,11 mmol/L una semana después del parto, aumentando este valor hasta 0,13 mmol/L a la semana 14 posparto (Kessler et al., 2014)



### 2.6.3. Colesterol

Es el elemento estructural de las lipoproteínas, precursor de las hormonas esteroideas y los ácidos biliares. El rango referencial de su concentración plasmática va desde 2,75 a 5,61 mmol/L en lactación y de 1,7 a 4,3 mmol/L en vacas en parto, valores superiores indican exceso de grasa en la dieta y por debajo una deficiencia energética con la agravante de alteración hepática (Duque et al., 2011).

### 2.6.4. $\beta$ -hidroxibutirato

Este cuerpo cetónico es el producto del metabolismo de los glúcidos y lípidos, se forman a partir de los ácidos grasos de la dieta y de la grasa corporal. Los ácidos grasos de cadena larga, producto de la movilización de las reservas, son convertidos en el hígado en acetoacetato y después en BHB. El valor referencial en parto es de <0,5mmol/l y en lactancia <1,0mmol/l (Duque et al., 2011).

## 2.7. Importancia del análisis del BHB y NEFAS.

Las concentraciones circulantes de NEFA y BHB miden la adaptación del organismo al balance energético negativo. La concentración de NEFAS reflejan la magnitud de movilización de la grasa de las reservas, mientras que el BHB refleja el nivel de oxidación de las grasas en el hígado. Los cuerpos cetónicos son el metabolito intermedio de la oxidación incompleta de los ácidos grasos por el acetil CoA y que aumenta su cantidad cuando el suministro (movilización del tejido adiposo) de NEFAS supera la capacidad del hígado para completar la oxidación (Leblanc, 2010).

Altas concentraciones de NEFAS (>0,4 mmol/l) en los 10 días antes del parto es asociado con el riesgo de incrementar la presentación de desplazamiento abomasal, retención de placenta y pérdida de la producción en los primeros meses de lactancia (Leblanc, 2010).

Cuando las concentraciones de BHB están entre 1,2 y 1,4 mmol/l en la primera o segunda semana posteriores al parto están asociadas también con el incremento de



riesgo de desplazamiento del abomaso, metritis, cetosis clínica, endometritis subclínica y mayor tiempo y severidad de mastitis aunque no aumenta su incidencia (Carrier et al., 2004; Oetzel, 2007), afectando también la producción de leche (Leblanc, 2010) (Zarrin et al., 2017); además concentraciones elevadas de BHB afectan el metabolismo de los carbohidratos reduciendo la concentración de glucosa por una disminución en el proceso de gluconeogénesis (Zarrin et al., 2017).

La presencia de cetosis en el pre y posparto influencia el performance reproductivo por lo menos dos meses. Vacas con BHB en leche  $>$  a 0,1mmol/l en la primera semana posparto tienen más riesgo de no ovular hasta las 9 semanas posparto (63 días posparto). Vacas que presentaron cetosis en las dos primeras semanas de lactación tienen menos probabilidades de preñarse a la primera inseminación y además se alarga el intervalo de días abiertos (Leblanc, 2010).

En recientes estudios se ha podido observar que al suministrar 300ml de dextrosa al 50% vía endovenosa más un suministro de 300ml de propilenglicol vía oral, reduce el BHB significativamente (Mann et al., 2017)

La concentración de NEFA inicia a elevarse dos a cuatro días antes hasta aproximadamente tres días después del parto, pero la magnitud del incremento es más grande, y el incremento empieza tempranamente en vacas que subsecuentemente experimentaron enfermedades metabólicas. El BHB es el cuerpo cetónico predominante en la sangre y es estable. Hay alguna variación de concentraciones de BHB en el día y con la alimentación. Las cetonas se excretan por la orina, resultando en más altas concentraciones en la orina que en la sangre. Por consiguiente, el test de cetonas en orina tiende a reducir la especificidad relativa en suero. Se considera que las dos primeras semanas posparto es el tiempo óptimo para testear la cetosis subclínica; además, el BHB puede ser falsamente elevado por hemólisis en la muestra de sangre y los resultados de NEFA pueden ser imprecisos (Leblanc, 2010).



## 2.8. Determinación de BHB en sangre.

La determinación de BHB en sangre se la realiza por ser más estable a pesar que este mismo metabolito lo podemos encontrar en la leche y en la orina (cuatro veces más que en la sangre) (Carrier et al., 2004). La mayor parte de los test para BHB comerciales están destinados a detectar el Aceto-acetato y el grado de disminución de la acetona tanto en leche como en orina a través de colorimetría. A nivel de suero sanguíneo se lo ha podido hacer también con espectrofotometría (Iwersen et al., 2009).



## CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Materiales.

#### 3.1.1. Físicos.

- Tablero.
- Hojas de campo.
- Registros de partos de cada vaca.
- Equipo informático
- Medidor digital de BHB (Porta Check BHB)
- 140 jeringuillas de 3cm<sup>3</sup>.
- Equipo de geo-posición satelital (GPS)
- Guantes Ginecológicos.
- Equipo de ultrasonografía

#### 3.1.2. Químicos.

- 140 Tiras Medidoras de BHB.
- Gel lubricante.

#### 3.1.3. Biológicos.

- 40 vacas en periodo post parto clínicamente sanas.
- 18 hectáreas de pasturas de mezcla forrajera: Raygrass (*Lolium perenne*), pasto azul (*Dactylis glomerata*), trébol blanco (*Trifolium repens* L.) trébol rojo (*Trifolium pratense*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y holco (*Holcus Lanatus*).



## **3.2. Métodos.**

### **3.2.1. Ubicación de la investigación.**

El presente trabajo investigativo se llevó a cabo en la parroquia Biblián, perteneciente al cantón del mismo nombre, provincia del Cañar; en la Hacienda “La Esmeralda” de propiedad del Dr. Henry Eljuri ubicada a 2608 msnm, en las siguientes coordenadas UTM: 17S 730059.86, 9706188.34.

### **3.2.2. Caracterización de la Unidad de Análisis.**

El ensayo se realizó en 40 vacas Holstein Friesian mestizas entre 3 a 7 años de edad, de dos a cuatro partos, con una condición corporal (CC) al momento del parto de 3 a 3,5 en la escala de 1 a 5, clínicamente sanas, que no hayan tenido ningún problema durante el parto, pastoreo controlado con cerca eléctrica, concentrado al momento del ordeño, sales minerales de manera ocasional y ensilaje de pasto previo al ordeño (ordeño mecánico dos veces al día). No se consideraron en el estudio a vacas que presentaron distocia, retención placentaria, hipocalcemia, metritis.

### **3.2.3. Descripción del medidor de BHB.**

El medidor de BHB consta de 3 piezas, el medidor digital, las tiras reactivas y el código del kit de las 25 tiras reactivas, el mismo que se encuentra en el mercado con el nombre de Porta Check (BHB Check) diseñado específicamente para bovinos, el cual utiliza sangre (una gota) tomada por punción de la vena coccígea y proporciona resultados cuantitativos en 5 segundos.

### **3.2.4. Metodología de trabajo.**

La investigación se realizó entre los meses de julio y noviembre de 2016. Una vez que las vacas parieron se constató que se encuentran bajo los criterios de inclusión



y se los identificó mediante los registros para poder realizar el trabajo investigativo. Las vacas fueron muestreadas en los días 7, 14, 21 y 28 posparto para la determinación de concentración de BHB en una muestra de sangre tomada de la vena coccígea. Para establecer la actividad ovárica del animal y definir el posible tipo de anestro presente en los animales se realizó un seguimiento ecográfico en los días 21, 28 y 35 posparto. De acuerdo a la concentración de BHB en sangre y el punto de corte establecido como mínimo para generar problemas metabólicos (McArt et al., 2013), se agrupó a las vacas de la siguiente manera:

- Vacas con  $< 1,2$  mmol/L de BHB
- Vacas con  $\geq 1,2$  a  $1,4$  mmol/L de BHB y
- Vacas con  $> 1,4$  mmol/L de BHB.

Además, se consideró los valores de BHB obtenidos en el ensayo como datos a ser usados para determinar el coeficiente de correlación según lo planificado.

El tipo de anestro se clasificó de acuerdo a Wiltbank et al. (2002) y Peter et al. (2009) cuando entre dos ecografías a intervalos de 7 días no existió cambios sustanciales, así:

- Tipo 1.- Folículos con menos de 8mm de diámetro (estado de emergencia folicular).
- Tipo 2.- Folículos mayores o iguales a 8mm y  $\leq$  a 10mm de diámetro (estado de desviación folicular).
- Tipo 3.- Folículos  $> 10$  mm de diámetro pero sin la presencia de cuerpo lúteo (quiste folicular).
- Tipo 4.- Presencia de cuerpo lúteo persistente (quiste luteal) con duración mayor a 21 días; y
- Cíclicas.- Presencia de estructuras ováricas de tamaño ovulatorio acompañadas de cuerpo lúteo de actividad normal o que presentaron manifestaciones de celo.



Se consideró hasta el día 35 como periodo de duración de la investigación y desde el día 21 como periodo voluntario de espera debido al sistema de producción tecnificado al que están sujetas las vacas de esta investigación.

### **3.2.5. Recolección de datos.**

Los datos se recolectaron a partir del 7<sup>o</sup> al 28<sup>o</sup> día posparto de las vacas seleccionadas para la determinación de la concentración del BHB en sangre y registrados en la respectiva hoja de campo. Así mismo, se procedió a la recolección de información de actividad ovárica a partir del día 21 al 35 considerando el tipo de sistema de producción al que las vacas analizadas están sometidas (Sistema pasto-concentrado-ensilaje-sales minerales).

### **3.2.6. Variables de estudio.**

Se consideró como variable de estudio independiente la concentración de BHB en sangre obtenida del analizador de este metabolito Porta-Check®, y como variable dependiente la clasificación del anestro según los valores del BHB.

### **3.2.7. Presentación y Análisis estadístico.**

Los resultados fueron presentados en porcentajes (%) de acuerdo al tipo de anestro encontrado durante el tiempo en el que se realizó la investigación; además, con respecto a las concentraciones de BHB, estas fueron presentadas según su concentración en mmol/L y agrupadas de acuerdo a la metodología planteada. El análisis estadístico fue realizado mediante el programa estadístico SPSS versión 20.0 (IBM©) aplicando: prueba de independencia de Chi cuadrado ( $X^2$ ); coeficiente de correlación de Tau\_b de Kendall; prueba de significación de H de Kruskal-Wallis; y, la curva de ROC y el estadístico AUC (área bajo la curva) para establecer el punto de corte como valor predictivo para la presencia de anestro.



## CAPITULO IV: RESULTADOS

Los resultados obtenidos mostraron que el 12,5% (5/40) de vacas presentaron manifestaciones de celo dentro de los 35 días posparto en que se realizó el ensayo; 22,5% (9/40) presentaron anestro tipo I; 25,0% (10/40) presentaron anestro tipo II; el 35,0% (14/40) se categorizaron como vacas en anestro tipo III; y un 5,0% (2/40) de los animales evidenciaron un anestro tipo IV (ver Anexo 1).

El metabolito  $\beta$ -Hidroxibutirato (BHB) medido en los días propuestos en todos los animales presentó al día 7 un mínimo de 0,40mmol/L y un máximo de 2,80mmol/L con una media de  $0,87 \pm 0,40$  mmol/L; al día 14 el mínimo fue de 0,40mmol/L y un máximo de 4,0mmol/L, la media observada fue de  $0,86 \pm 0,58$  mmol/L; en el día 21, un mínimo de 0,40mmol/L y un máximo de 2,10mmol/L, media de  $0,86 \pm 0,37$  mmol/L; y, al día 28 presentó mínimo 0,40mmol/L y máximo 2,60mmol/L con una media de  $0,84 \pm 0,39$  mmol/L. Aunque algunos de los valores máximos registrados son muy altos ( $\geq 2,1$  mmol/L), su frecuencia de presentación no afectó las medidas de tendencia central de la concentración del BHB al momento del análisis (Anexo 2).

**Tabla 1. Concentración de  $\beta$ -Hidroxibutirato en sangre en los diferentes días posparto (DPP) en todas las vacas (cíclicas y anéstricas).**

		Concentraciones de $\beta$ -Hidroxibutirato en sangre (mmol/L)							
		7DPP		14DPP		21DPP		28DPP	
		Media	$\pm$ SD	Media	$\pm$ SD	Media	$\pm$ SD	Media	$\pm$ SD
Estado reproductivo	Cíclica	0,84	$\pm 0,49$	0,80	$\pm 0,22$	0,84	$\pm 0,15$	0,70	$\pm 0,14$
	Anéstrica Tipo 1	0,81	$\pm 0,29$	0,67	$\pm 0,18$	0,72	$\pm 0,19$	0,77	$\pm 0,26$
	Anéstrica Tipo 2	0,79	$\pm 0,23$	0,72	$\pm 0,36$	0,75	$\pm 0,21$	0,80	$\pm 0,19$
	Anéstrica Tipo 3	0,96	$\pm 0,55$	1,06	$\pm 0,86$	1,00	$\pm 0,53$	0,97	$\pm 0,59$
	Anéstrica Tipo 4	0,95	$\pm 0,21$	1,25	$\pm 0,49$	1,15	$\pm 0,21$	0,85	$\pm 0,07$
Total		0,87	$\pm 0,40$	0,87	$\pm 0,58$	0,86	$\pm 0,37$	0,84	$\pm 0,39$

**Leyenda:** Se clasificó los anestros de acuerdo al desarrollo de los folículos de la siguiente manera: **Tipo 1** (4-9 mm). **Tipo 2** (10 -15 mm). **Tipo3** (15-25 mm). **Tipo 4** (F>25 mm O CL PERSISTENTE)



La categorización de las vacas de acuerdo a la metodología propuesta indica que del 89,4 % de los animales presentaron una concentración de BHB en sangre  $< 1,2$  mmol/L; de 4,4 % presentaron una concentración  $\geq 1,2$  a 1,4 mmol/L; y, de 6,2 % de los animales presentaron valores superiores a 1,4 mmol/L de BHB en sangre, indicando que los animales empleados en esta investigación no se vieron afectados drásticamente por el balance energético negativo posparto (Anexo 3).

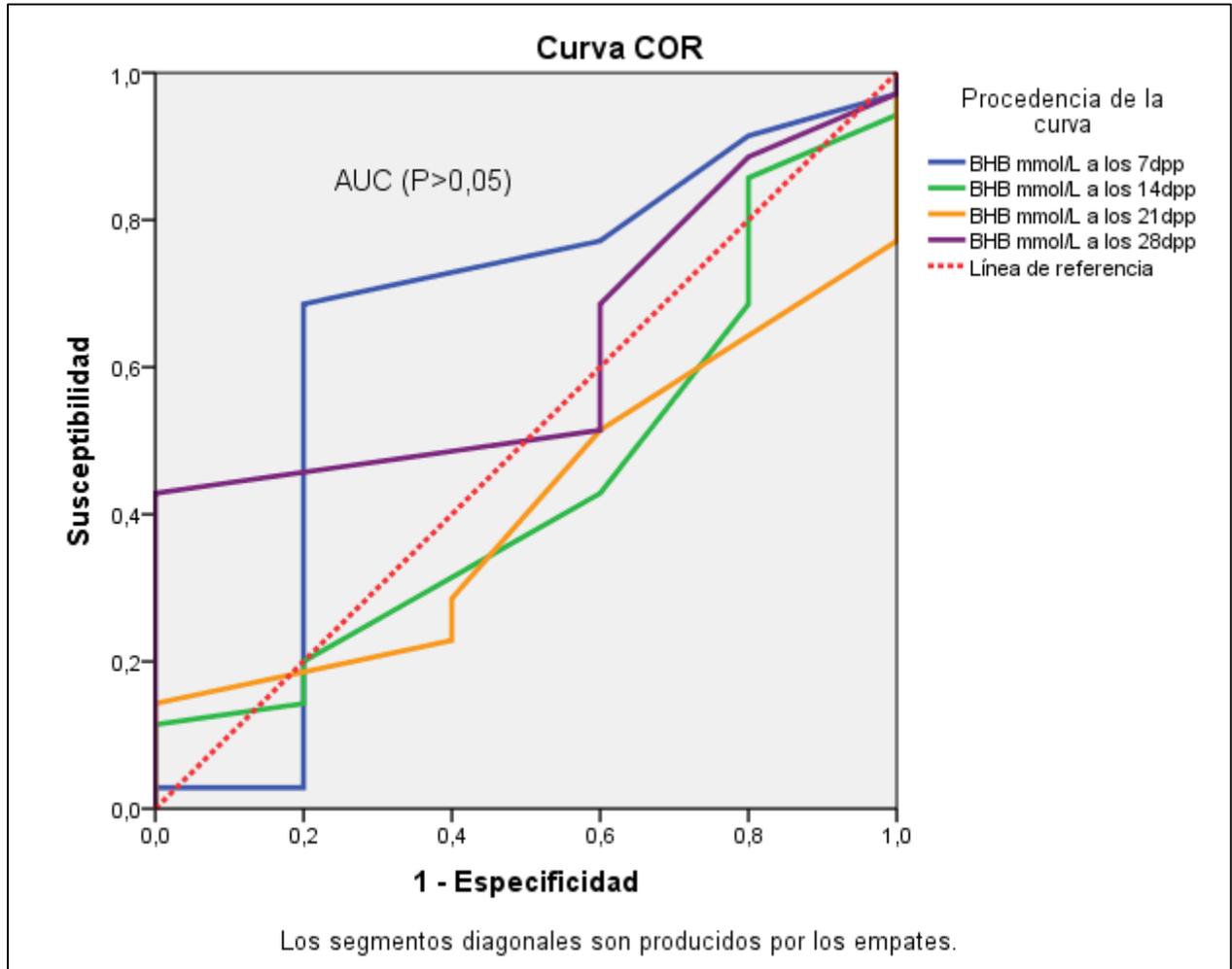
Las vacas que presentaron celo dentro de los 35 días posparto fueron retiradas del análisis por lo que sólo se consideraron para los análisis estadísticos respectivos a los animales que no manifestaron ninguna conducta estral hasta el día señalado. Al realizar el análisis estadístico mediante la prueba de Chi-cuadrado, no se pudo observar dependencia ( $P > 0,05$ ) entre la categorización de los animales de acuerdo a la concentración del metabolito en sangre estudiado y el tipo de anestro encontrado (I, II, III, y IV) (Ver Anexo 4 y 5).

Sin embargo, el análisis de correlación con el estadístico de Tau<sub>b</sub> de Kendall estableció una relación positiva de 0,403 ( $P < 0,05$ ) entre el estado reproductivo y la concentración de BHB a los 14 días posparto, lo que indica que el 40,3% de animales anéstricos encontrados en este ensayo hasta el día 35 se debió a las concentraciones en sangre de este metabolito en el tiempo indicado, mientras que el 59,7% corresponde a otras causas no analizadas en este trabajo (Anexo 6).

La prueba H de Kruskal Wallis, permitió establecer que el anestro tipo IV seguido del anestro tipo III (ver Tabla 1) muestran las concentraciones más altas de BHB en sangre en el día 14 posparto y que pudieran ser responsables de un estado anovulatorio a los 35DPP a consecuencia de un cetosis subclínica (Ospina et al., 2010) (Anexo 7).

Para establecer un punto de corte entre la concentración de BHB en sangre a los 7, 14, 21 y 28 DPP y la presencia de vacas en anestro (Tipo I, II, III y IV) a los 35 DPP, los datos fueron analizados mediante la curva de ROC y el AUC (área bajo la curva). Los resultados obtenidos indicaron que la concentración de este metabolito en los diferentes tiempos en los que se realizó las mediciones no es un factor

predictivo de la presencia de anestro en el tiempo señalado al presentar valores no significativos ( $P > 0,05$ ) del estadístico AUC.



**Figura N° 1** Curva de ROC elaborada con los datos de la concentración de BHB en los diferentes días planteados.

En la curva de ROC elaborada se muestra que los valores de BHB se encuentran por debajo de la línea de referencia del AUC, determinando que este metabolito no conforma un elemento predictor de la presencia de anestro en las vacas lecheras estudiadas.



## CAPITULO V: DISCUSIÓN

Las concentraciones de BHB en sangre en los cuatro momentos muestreados (7, 14, 21 y 28 DPP) de los animales en estudio fueron inferiores a los límites establecidos ( $\geq 1,2$  mmol/L) para generar enfermedades metabólicas (Leblanc, 2010) siendo la media más alta obtenida en esta investigación de  $0,87 \pm 0,58$  mmol/L a los 14 días posparto. Balarezo et al., (2016) obtuvieron similares resultados ( $0.87 \pm 0.42$ ) en un estudio realizado en la provincia del Carchi (Ecuador); aunque no informa el día en el que fue tomado la muestra de sangre para la determinación de este metabolito, señala que la alimentación de estos animales fue deficiente en energía metabolizable por lo que pudiera afectar la concentración de BHB. Guyot, et al., (2017) reportaron que bajo un eficiente manejo alimenticio, las vacas saludables de CC  $2.8 \pm 0.3$  y  $4 \pm 2$  partos mostraron una concentración de BHB de  $0.55 \pm 0.21$  mmol/L a los 8 DPP. Estudios realizados por Lomander et al., (2012) buscando un punto de corte como valor para predecir el anestro en vacas lecheras, concluyeron manifestando que la funcionalidad del BHB (y otros metabolitos) es baja y que se debe tener en cuenta otros factores como la individualidad del animal, raza y la paridad concordando con esta investigación en la que el BHB no es un buen predictor de anestro de acuerdo a lo observado en la curva de ROC.

La categorización de las vacas de acuerdo a McArt et al., (2013) fue empleada en esta investigación, valores  $< 1.2$  mmol/L de BHB en sangre fueron considerados umbrales que no representan problemas metabólicos (cetosis subclínica); sin embargo, Ospina et al., (2010a) determinó en vacas lecheras sometidas a estabulación y a una ración totalmente mezclada (RTM) un punto de corte de  $0,97$  mmol/L, por sobre este punto aumenta la probabilidad de aparecer enfermedades metabólicas. En esta investigación no se evaluó los problemas metabólicos pero los valores obtenidos indican que un 12,5% de los animales pudieran haber estado presentando un problema asociado a la cetosis subclínica y clínica ( $\geq 1,2$  mmol/L), según Suthar et al., (2013) la prevalencia de cetosis subclínica puede variar entre 6,9 a 43% en la lactación temprana a partir de los valores indicados.



Matoba et al., (2012) encontraron una correlación positiva entre el número de folículos  $\geq 3\text{mm}$  presentes en el ovario en los primeros 42 DPP y la concentración de BHB ( $0,91\text{mmol/L}$ ) de 22% ( $r: 0,22; p < 0,05$ ) siendo menor a partir de este día pero sin diferir el grado de calidad. En esta investigación, el 22,5% de las vacas presentaron anestro tipo I (estado de emergencia folicular  $< 8\text{mm}$ ) hasta el 35 DPP, con concentraciones variables desde  $0,67 \pm 0,18\text{mmol/L}$  a  $0,81 \pm 0,29\text{mmol/L}$  de BHB, el estudio no se enfocó en el número de folículos presentes en el momento de la emergencia folicular.

Ospina et al., (2010b) en un trabajo realizado en ganado lechero en donde se analizó la asociación entre el NEFA y el BHB sobre el performance reproductivo en la lactancia temprana, establecieron que, cuando el BHB se encuentra en concentraciones  $> 0,97\text{mmol/L}$  en las dos primeras semanas posparto, se alarga a 70 días el periodo voluntario de espera, considerado ya en anestro según Ramírez (2011) el cual indica que una vaca se encuentra en anestro a partir de los 60 días posparto. Los datos presentados en este trabajo podrían diferir de algunos de los trabajos citados ya que la información fue levantada desde el 21 al 35 DPP, sin considerar el periodo de espera voluntario de 44 días para sistemas lecheros en pastoreo según Rhodes et al., (2003) o de 60 días para sistemas de ganadería de doble propósito (leche y carne) según Ramírez (2011).



## CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El presente estudio demuestra que la concentración sanguínea de  $\beta$ -hidroxibutirato es un factor limitado como predictor para determinar la existencia de algún tipo de anestro a los 35 DPP y que está más relacionado con cuadros de enfermedades metabólicas como la cetosis (clínica o subclínica) por la movilización de las reservas corporales.

Se recomienda: 1) considerar al BHB como un medio para determinar el estatus alimenticio de los animales durante la lactancia temprana y brindar alternativas de solución para el control de la movilización exagerada de las reservas corporales; 2) profundizar la investigación en las animales que presenten anestros tipo III y IV y los niveles de BHB ya que podrían estar relacionados con enfermedades metabólicas como la cetosis.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Baek, J. M. (2012). Transición de la vaca lechera. Nevos criterios nutricionales que desafían nuestros paradigmas. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 11.
2. Báez, G., & Grajales, H. (2009). Anestro Posparto en Ganado Bovino en el Trópico. *Rev. MVZ Córdoba, Volumen 14*(No. 3), 1867-1875. Retrieved Enero 07, 2017, from <http://revistas.unicordoba.edu.co/ojs/index.php/mvz/article/viewFile/291/285>
3. Balarezo, L. R., García, J. R., Hernandez, M. A., & García, R. (2016). Estado metabólico y reproductivo del ganado Holstein en la región del Carchi, Ecuador. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3), 381-392.
4. Beñaldo, F. A., & Nuñez, C. (2012). Enfermedades del periodo de transición posparto y sus efectos en la producción de leche y la fertilidad en un sistema productivo de leche. *Tesis*, 77. Santiago, Chile.
5. Bicalho, M. L., Marques, E. C., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. (2016). The association of plasma glucose, BHBA, and NEFA with postpartum uterine diseases, fertility, and milk production of Holstein dairy cows. *Theriogenology*(PII: S0093-691X(16)30455-1), 38 pp.
6. Bobe, G., Young, J. W., & Beitz, D. C. (2004). Pathology, Etiology, Prevention, and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows\*. *Journal of Dairy Science*, Vol. 87( No. 10), 3105–3124. Retrieved Abril 29, 2017, from <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2804%2973446-3/abstract>
7. Calsamiglia, S. (2000). Nuevos avances en el manejo y alimentación de la vaca en el parto. *Sitio Argentino de producción animal*, 12.
8. Carrier, J., Stewart, S., Godden, S., Fetrow, J., & Rapnicki, P. (2004). Evaluation an use of three cowside test for detection of subclinical ketosis in early pospartum cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 87(No. 11), 3725-3735.
9. Cavestany, D., La Manna, A., Mendoza, A. F., Albanell, F., Belassi, S., Olariaga, F., . . . Silva, A. (2006). Efecto de diferentes dietas durante el periodo de transición (PT) sobre la producción y calidad de leche y el inicio de la actividad ovárica de vacas lecheras en pastoreo. *Jornada Técnica de Lechería*, (pp. 9 -16). Florida.



10. De Luca, L. (2010). Vacas lecheras de alta producción. Relación entre nutrición, metabolismo e inmunidad en el periodo de transición. *MV Revista de Ciencias Veterinarias*, Vol. 26(No. 3), 29-32.
11. Dórea, J. R., French, E. A., & Armentano, L. E. (2017). Use of milk fatty acids to estimate plasma nonesterified fatty acid concentrations as an indicator of animal energy balance. *Journal of Dairy Science*, Vol. 100 (No. 8), 1-13.
12. Duque, M., Olivera, M., & Rosero, R. (2011). Metabolismo energético en vacas durante la lactancia temprana y el efecto de la suplementación con grasa protegida. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24, 74-82. Retrieved Febrero 25, 2017, from <http://rccp.udea.edu.co>
13. Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E. C., & Chapwanya, A. (2013). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*. Retrieved Abril 15, 2017, from <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.007>
14. Fernández, G. (2009). *El Periodo de Transición en la Vaca Lechera*. Retrieved 2017, from [https://www.google.com.ec/?gws\\_rd=ssl#q=periodo+de+transicion+vacas+de+leche](https://www.google.com.ec/?gws_rd=ssl#q=periodo+de+transicion+vacas+de+leche)
15. Grigera, J., & Bargo, F. (2005). Evaluación del estado corporal en vacas lecheras. *Sitio argentino de producción animal*, 9.
16. Gross, J. J., Kessler, E. C., Albrecht, C., & Bruckmaier, R. M. (2015). Response of the Cholesterol Metabolism to a Negative Energy Balance in Dairy Cows Depends on the Lactational Stage. *PLOS ONE*, 17 pp.
17. Guyot, H., Detilleux, J., Lebreton, P., Garnier, C., Bonvoisin, M., Rollin, F., & Sanders, C. (2017). Comparison of Various Indices of Energy Metabolism in Recumbent and Healthy Dairy Cows. *PLoS one*, 12(1), 11pp.
18. Ha, N. T., Sharafi, A. R., Heise, J., Schlather, M., Schnuder, U., Gross, J. J., . . . Simianer, H. (2017). A reaction nomr sire model to study the effect of metabolic challenge in early lactation on the functional . *Journal of Dairy Science*, 100(No. 5), 1-12.
19. Hernández, R., & Díaz, T. (2011). Las grasas sobrepasantes y su efecto sobre la actividad productiva y reproductiva en ruminates. In C. González, M. Madrid, & E. Soto, *Innovación y Tecnología en la Ganadería Doble Propósito* (pp. 333-343). Astro Data S.A.



20. Heuwieser, W. (2012). 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* (pp. 27- 31). Santander: ANEMBE.
21. Hills, J. L., Wales, W. J., Dunshea, F. R., Garcia, S. C., & Roche, J. R. (2015). *An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows*. Retrieved febrero 28, 2017, from <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8475>
22. Hincapié, J. J., Pipaon, E., & Blanco, G. (2008). *Trastornos Reproductivos en la Hembra Bovina*. Tegucigalpa: Litocom.
23. Iwersen, M., Falkenberg, U., Voigtsberger, R., Forderung, D., & Heuwieser, W. (2009). Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 92(No. 6), 2618-2624.
24. Jaureguiberry, M., Madoz, L. V., & de la Sota, R. L. (2015). Actualización en el síndrome de vaca repetidora. *Taurus*, Año 17(Nº 65), 14-19.
25. Kessler, E. C., Gross, J. J., Bruckmaier, R. M., & Albrecht, C. (2014). Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. *Journal of Dairy Science*, Vol. 100(No. 9), 1-10.
26. Leblanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of reproduction and development.*, 56, 29-35.
27. Lomander, H., Gustafson, H., Svensson, C., Ingvarsen, L., & Frössling, J. (2012). Test accuracy of metabolic indicators in predicting decreased fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol.95 (No. 12), 7086–7096.
28. M Nahum, M Marín, C Ríos, P Meléndez. (2016). *Perfil de ácidos grasos lácteos en vacas lecheras postparto alimentadas con soiling o ensilaje de alfalfa bajo sistema de confinamiento*. Retrieved 01 05, 2017, from [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2016000100004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2016000100004)
29. Mann, S., Leal Yepes, F. A., Behling-Kelly, E., & McArt, J. A. (2017). The effect of different treatments for early-lactation hyperketonemia on blood  $\beta$ -hydroxybutyrate, plasma nonesterified fatty acids, glucose, insulin, and glucagon in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, Vol. 100(No. 8), 1–13.
30. Mann, S., Nydam, D., Lock, A., Overton, T., & McArt, J. A. (2016). Short communication: Association of milk fatty acids with early lactation hyperketonemia and elevated concentration of nonesterified fatty acids. *Journal of Dairy Science*, Vol. 99(No. 7), 1-7.



31. Matoba, S., O'Hara, L., Carter, F., Kelly, A. K., Fair, T., Rizos, D., & Lonergan, P. (2012). The association between metabolic parameters and oocyte quality early and late postpartum in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 95 (No. 3), 1257–1266.
32. McArt, J., Nydam, D., Oetzel, G., Overton, T., & Ospina, P. (2013). Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 46.
33. Meikle, A., Cavestany, D., Carriquiry, M., Adrien, M. L., Ruprecht, G., Rovere, G., . . . Chilbroste, P. (2010). *Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica*. Retrieved Noviembre 08, 2017, from <http://www.fagro.edu.uy/~agrocienza/index.php/directorio/article/view/407>
34. Meikle, A., Kulcsár, M., Crespi, D., Chilliard, Y., La Manna, A., Balogh, O., . . . Cavestany, D. (2006). Suplementación energética preparto sobre perfiles endócrinos y longitud del anestro posparto en vacas lecheras. *Jornada Técnica de Lechería*, (pp. 17-18). Florida.
35. Montaña, E., & Ruiz, Z. (2005). Porque no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano? *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, Vol. 18(No. 2), 127-135. Retrieved Marzo 27, 2017
36. Motta, P., Ramos, N., González, C., & Castro, E. (2011). Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Vet.zootec*, 5(2), 88-99. Retrieved 2017, from [http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ5\(2\)\\_8.pdf](http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ5(2)_8.pdf)
37. Oetzel, G. R. (2007). Herd-Level Ketosis – Diagnosis and Risk Factors. *Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting*, (pp. 67-91). Vancouver.
38. Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, 93(2), 546–554.
39. Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010b). Associations of elevated nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science*, Vol. 93( No. 4), 1596–1603.



40. Peter, A. T., Vos, P., & Ambrose, D. J. (2009). Postpartum anestrus in dairy cow. *Theriogenology*, Vol. 71, 1333–1342. Retrieved Abril 30, 2017, from doi:10.1016/j.theriogenology.2008.11.012
41. Ramírez, N. (2011). Hacia el manejo reproductivo fisiológico de la vaca mestiza. In C. González, N. Madrid, & E. Soto, *Desarrollo sostenible de la ganadería doble proposito* (pp. 555-569). Maracaibo: Astro Data S.A. Retrieved marzo 09, 2017, from <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/32505>
42. Rhodes, F. M., McDougall, S., Burke, C., Verkerk, G. A., & McMillan, K. L. (2003). *Treatment of Cows with an Extended Postpartum Anestrous Interval*. Retrieved Enero 20, 2016, from [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(03\)73775-8/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(03)73775-8/pdf)
43. Risco, C. A. (2009). Manejo estratégico durante el periodo de transición para optimizar la producción y el comportamiento reproductivo de ganado lechero. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootécnica*, 56, 228-240.
44. Roche, J. F. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96, 282–296.
45. Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J., & Berry, D. P. (2009). Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, Vol. 92 (No. 12), 5769–5801. Retrieved Diciembre 23, 2015, from <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2809%2971299-8/pdf>
46. Sartori, R. (2009). Factores nutricionales que afectan o desempeñan en programas reproductivos en bovinos de corte e leche. *8vo Simposio internacional de reproducción animal* (p. 9). Córdoba: IRAC.
47. Suthar, V. S., Canelas, J., Deniz, A., & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Vol. 96( No. 5), 2925–2938.
48. Wiltbank, M., Gümen, A., & Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57, 21-52. Retrieved Enero 25, 2017, from [https://www.researchgate.net/profile/Roberto\\_Sartori/publication/11581987\\_Physiological\\_classification\\_of\\_anovulatory\\_conditions\\_in\\_cattle/links/5461055e0cf2c1a63bff7aee.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Roberto_Sartori/publication/11581987_Physiological_classification_of_anovulatory_conditions_in_cattle/links/5461055e0cf2c1a63bff7aee.pdf)
49. Zarrin, M., Grossen-Rösti, L., Bruckmaier, R. M., & Gross, J. J. (2017). Elevation of blood  $\beta$ -hydroxybutyrate concentration affects glucose



metabolism in dairy cows before and after parturition. *Journal of Dairy Science*, Vol. 100(No. 3), 1-11.



## ANEXOS

**Anexo 1.** Distribución porcentual del estado reproductivo de las vacas estudiadas en la investigación.

Estado reproductivo				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Cíclica	5	12,5	12,5
	Anéstrica Tipo 1	9	22,5	35,0
	Anéstrica Tipo 2	10	25,0	60,0
	Anéstrica Tipo 3	14	35,0	95,0
	Anéstrica Tipo 4	2	5,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0



**Anexo 2.** Estadística descriptiva de la concentración del metabolito BHB en sangre en los diferentes días en los que se levantó la información.

**Estadísticos descriptivos**

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
BHB mmol/L a los 7dpp	40	,40	2,80	,8700	,40205
BHB mmol/L a los 14dpp	40	,40	4,00	,8650	,57759
BHB mmol/L a los 21dpp	40	,40	2,10	,8625	,36633
BHB mmol/L a los 28dpp	40	,40	2,60	,8425	,38755
N válido (según lista)	40				

**Estadísticos**

	BHB mmol/L a los 7dpp	BHB mmol/L a los 14dpp	BHB mmol/L a los 21dpp	BHB mmol/L a los 28dpp
N Válidos	40	40	40	40
N Perdidos	0	0	0	0
Media	,8700	,8650	,8625	,8425
Desv. típ.	,40205	,57759	,36633	,38755



**Anexo 3.** Categorización de las vacas de acuerdo a la concentración de BHB en sangres en los diferentes días en los que se realizó el ensayo (7, 14, 21, 28 días).

**Categorización según BHB en sangre a los 7DPP**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos <1,2mmol/L	35	87,5	87,5	87,5
>=1,2 a 1,4 mmol/L	3	7,5	7,5	95,0
> 1,4 mmol/L	2	5,0	5,0	100,0
Total	40	100,0	100,0	

**Categorización según BHB en sangre a los 14DPP**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos <1,2mmol/L	36	90,0	90,0	90,0
>=1,2 a 1,4 mmol/L	1	2,5	2,5	92,5
> 1,4 mmol/L	3	7,5	7,5	100,0
Total	40	100,0	100,0	

**Categorización según BHB en sangre a los 21DPP**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos <1,2mmol/L	36	90,0	90,0	90,0
>=1,2 a 1,4 mmol/L	2	5,0	5,0	95,0
> 1,4 mmol/L	2	5,0	5,0	100,0
Total	40	100,0	100,0	

**Categorización según BHB en sangre a los 28DPP**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos <1,2mmol/L	36	90,0	90,0	90,0
>=1,2 a 1,4 mmol/L	1	2,5	2,5	92,5
> 1,4 mmol/L	3	7,5	7,5	100,0
Total	40	100,0	100,0	



**Anexo 4.** Prueba de Chi cuadrado para estado reproductivo y categorización de las vacas según BHB en sangre en los días 7 y 14 posparto.

### Estado reproductivo \* Categorización según BHB en sangre a los 7DPP

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,031 <sup>a</sup>	6	,540
Razón de verosimilitudes	6,134	6	,408
Asociación lineal por lineal	,312	1	,577
N de casos válidos	35		

a. 9 casillas (75,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,06.

### Estado reproductivo \* Categorización según BHB en sangre a los 14DPP

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,817 <sup>a</sup>	6	,338
Razón de verosimilitudes	5,845	6	,441
Asociación lineal por lineal	2,763	1	,096
N de casos válidos	35		

a. 9 casillas (75,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,06.



**Anexo 5.** Prueba de Chi cuadrado para estado reproductivo y categorización de las vacas según BHB en sangre en los días 21 y 28 posparto.

### Estado reproductivo \* Categorización según BHB en sangre a los 21DPP

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11,984 <sup>a</sup>	6	,062
Razón de verosimilitudes	9,664	6	,140
Asociación lineal por lineal	2,625	1	,105
N de casos válidos	35		

a. 9 casillas (75,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,11.

### Estado reproductivo \* Categorización según BHB en sangre a los 28DPP

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	Gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,724 <sup>a</sup>	6	,259
Razón de verosimilitudes	8,548	6	,201
Asociación lineal por lineal	1,046	1	,306
N de casos válidos	35		

a. 9 casillas (75,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,06.



### Anexo 6. Correlación entre el estado reproductivo y la concentración de BHB.

			Correlaciones				
			Estado reproductivo	BHB mmol/L a los 7dpp	BHB mmol/L a los 14dpp	BHB mmol/L a los 21dpp	BHB mmol/L a los 28dpp
Estado reproductivo	Coeficiente de correlación		1,000	,183	,403**	,268	,076
	Sig. (bilateral)		.	,192	,004	,055	,583
	N		35	35	35	35	35
BHB mmol/L a los 7dpp	Coeficiente de correlación		,183	1,000	,445**	,414**	,354**
	Sig. (bilateral)		,192	.	,000	,001	,003
	N		35	40	40	40	40
Tau_b de Kendall	Coeficiente de correlación	BHB mmol/L a los 14dpp	,403**	,445**	1,000	,404**	,283*
	Sig. (bilateral)		,004	,000	.	,001	,019
	N		35	40	40	40	40
BHB mmol/L a los 21dpp	Coeficiente de correlación		,268	,414**	,404**	1,000	,493**
	Sig. (bilateral)		,055	,001	,001	.	,000
	N		35	40	40	40	40
BHB mmol/L a los 28dpp	Coeficiente de correlación		,076	,354**	,283*	,493**	1,000
	Sig. (bilateral)		,583	,003	,019	,000	.
	N		35	40	40	40	40

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).



**Anexo 7.** Prueba H de Kruskal-Wallis para el establecimiento del orden del tipo de anestro presentado al día 35 posparto por efecto de las concentraciones de BHB en los diferentes días analizados.

### Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos			
	Estado reproductivo	N	Rango promedio
BHB mmol/L a los 7dpp	Anéstrica Tipo 1	9	16,33
	Anéstrica Tipo 2	10	15,45
	Anéstrica Tipo 3	14	20,07
	Anéstrica Tipo 4	2	23,75
	Total	35	
BHB mmol/L a los 14dpp	Anéstrica Tipo 1	9	13,50
	Anéstrica Tipo 2	10	13,10
	Anéstrica Tipo 3	14	22,71
	Anéstrica Tipo 4	2	29,75
	Total	35	
BHB mmol/L a los 21dpp	Anéstrica Tipo 1	9	15,83
	Anéstrica Tipo 2	10	14,10
	Anéstrica Tipo 3	14	20,43
	Anéstrica Tipo 4	2	30,25
	Total	35	
BHB mmol/L a los 28dpp	Anéstrica Tipo 1	9	16,28
	Anéstrica Tipo 2	10	18,35
	Anéstrica Tipo 3	14	18,36
	Anéstrica Tipo 4	2	21,50
	Total	35	

Estadísticos de contraste <sup>a,b</sup>				
	BHB mmol/L a los 7dpp	BHB mmol/L a los 14dpp	BHB mmol/L a los 21dpp	BHB mmol/L a los 28dpp
Chi-cuadrado	2,140	9,865	5,680	,528
gl	3	3	3	3
Sig. asintót.	,544	,020	,128	,913

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Estado reproductivo



**Anexo 8.** Concentraciones de BHB encontradas en los diferentes tipos de anestros a los 7, 14, 21 y 28 días posparto en los diferentes tipos de anestros encontrados.

BHB mmol/L a los 7dpp

	Media	Desviación típica
Anéstrica Tipo 1	,81	,29
Anéstrica Tipo 2	,79	,23
Estado reproductivo Anéstrica Tipo 3	,96	,55
Anéstrica Tipo 4	,95	,21
Total	,87	,40

BHB mmol/L a los 14dpp

	Media	Desviación típica
Anéstrica Tipo 1	,67	,18
Anéstrica Tipo 2	,72	,36
Estado reproductivo Anéstrica Tipo 3	1,06	,86
Anéstrica Tipo 4	1,25	,49
Total	,87	,61

BHB mmol/L a los 21dpp

	Media	Desviación típica
Anéstrica Tipo 1	,72	,19
Anéstrica Tipo 2	,75	,21
Estado reproductivo Anéstrica Tipo 3	1,00	,53
Anéstrica Tipo 4	1,15	,21
Total	,87	,39

BHB mmol/L a los 28dpp

	Media	Desviación típica
Anéstrica Tipo 1	,77	,26
Anéstrica Tipo 2	,80	,19
Estado reproductivo Anéstrica Tipo 3	,97	,59
Anéstrica Tipo 4	,85	,07
Total	,86	,41



**Anexo 9.** Área bajo la curva (AUC) calculados para la concentración de BHB en sangre como predictor de anestro.

**Área bajo la curva**

Variables resultado de contraste	Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
BHB mmol/L a los 7dpp	,654	,152	,270	,356	,953
BHB mmol/L a los 14dpp	,443	,134	,683	,181	,705
BHB mmol/L a los 21dpp	,411	,114	,526	,188	,634
BHB mmol/L a los 28dpp	,626	,109	,368	,412	,839

La variable (o variables) de resultado de contraste: BHB mmol/L a los 7dpp, BHB mmol/L a los 14dpp, BHB mmol/L a los 21dpp, BHB mmol/L a los 28dpp tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

a. Bajo el supuesto no paramétrico

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Anexo 10. Figura – Fotografía.

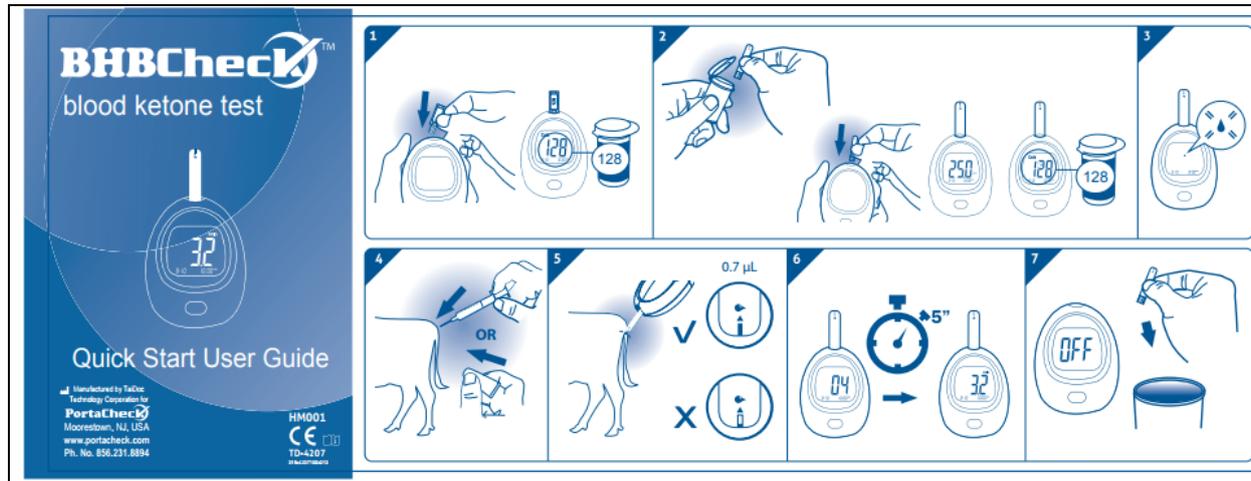


Figura 1: Procedimiento pasó a paso del uso del medidor portátil BHBCheck



Fotografía 1. Identificación y selección de vacas post parto para el estudio.



**Fotografía 2.** Toma de muestra de Sangre para análisis de BHB.



**Fotografía 3.** Lectura de la concentración sanguínea de BHB.



**Fotografía 4.** Evaluación de la actividad ovárica por ultrasonografía