

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“MONITOREO DEL PREPARTO Y ESTUDIO DEL EFECTO DE LA  
SUPLEMENTACIÓN ORAL DE CALCIO SOBRE LAS ENFERMEDADES  
DEL PERIPARTO EN VACAS LECHERAS”**

**Por**

**Julia DESTEFANI GONZALEZ  
Gabriela GOSLINO SILVA  
María Victoria PONS ROMERO**

TESIS DE GRADO presentada  
como uno de los requisitos para obtener el título  
de Doctor en Ciencias Veterinarias  
(Orientación Producción Animal y  
Orientación Higiene, Inspección, Control y  
Tecnología de los alimentos de origen animal)

MODALIDAD: Ensayo experimental


**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2018**

## TABLA DE CONTENIDO

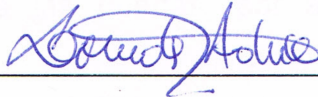
	Página
1. PÁGINA DE APROBACIÓN.....	3
2. AGRADECIMIENTOS.....	4
3. ÍNDICE DE TABLAS.....	5
4. ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
5. LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
6. RESUMEN.....	9
7. SUMMARY.....	10
8. INTRODUCCIÓN .....	11
9. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	14
9.1. Producción de leche en Uruguay.....	14
9.2. Período de transición .....	14
9.2.1. Cambios endocrinos .....	15
9.2.2. Cambios en el consumo de materia seca y balance de energía.....	17
9.2.3. Inmunosupresión de la vaca lechera en el periparto.....	18
9.3. Enfermedades del período de transición.....	19
10. HIPOTESIS.....	30
11. OBJETIVOS.....	31
11.1. Generales.....	31
11.2. Específicos .....	31
12. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
12.1. Localización y período experimental.....	32
12.2. Diseño experimental.....	32
12.3. Tratamientos.....	32
12.4. Alimentación preparto.....	33
12.5. Manejo de los animales.....	33
12.6. Determinaciones.....	34
12.6.1. Criterios clínicos para la determinación de enfermedades.....	34
12.6.2. Determinaciones en orina.....	34
12.6.3. Determinaciones en suero.....	34
12.6.4. Determinaciones en TMR preparto.....	35
12.7. Análisis estadístico.....	36
13. RESULTADOS.....	38
13.1. Período preparto y parición.....	38
13.2. Enfermedades clínicas del periparto.....	39
13.3. Concentración de calcio sanguíneo.....	40
13.4. Concentración de fósforo sanguíneo.....	43
13.5. Concentración de magnesio sanguíneo.....	44
13.6. Relación calcio fósforo.....	46
13.7. Estado corporal.....	46
13.8. Concentración de ácidos grasos no esterificados en suero sanguíneo.....	47
13.9. Concentración de $\beta$ - hidroxibutirato en suero sanguíneo.....	48
14. DISCUSIÓN.....	50
15. CONCLUSIONES.....	54
16. BIBLIOGRAFÍA.....	55

## 1. PÁGINA DE APROBACIÓN

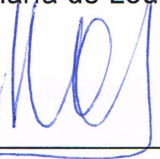
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: 


Dr. Eduardo Blanc

Segundo miembro: 

Dra. María de Lourdes Adrien

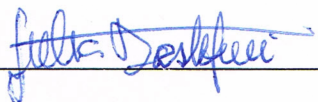
Tercer miembro: 

Dr. Roque Almeida

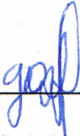
Cuarto miembro: 

Dra. Gretel Rupprechter

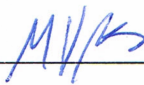
Fecha: 21 de diciembre de 2018

Autor: 

Julia Destefani González

Autor: 

Gabriela Goslino Silva

Autor: 

María Victoria Pons Romero

## **2. AGRADECIMIENTOS**

A nuestra tutora Dra. Lourdes Adrien por su dedicación, motivación y apoyo siendo fundamental durante la realización de este trabajo.

A la co-tutora Dra. Gretel Ruprechter por el tiempo dedicado y por brindarnos bibliografía necesaria.

A la EEMAC por abrirnos las puertas, por ayudarnos en el ensayo experimental.

Al personal del tambo de la EEMAC por su ayuda diaria en el manejo de los animales.

Al Ing. Diego Mattiauda y al Ing. Matías Oborsky por el apoyo durante el ensayo experimental.

A los integrantes de Biblioteca de la Facultad de Veterinaria por la colaboración permanente en la búsqueda bibliográfica.

A la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República y a todos nuestros profesores por nuestra formación.

A nuestros amigos de siempre que nos acompañaron en el trayecto como estudiantes.

A amigos y compañeros que conocimos durante la carrera.

A nuestra familia por darnos la oportunidad de estudiar y hacernos crecer como personas brindando su apoyo incondicional en el transcurso de la carrera.

### 3. ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Composición de la dieta preparto (TMR).....	33
Tabla 2. Reactivos y métodos utilizados para determinar los metabolitos en suero. ....	35
Tabla 3. Composición química de TMR (resultados expresados en base seca).....	36
Tabla 4. Incidencia de patologías clínicas durante los primeros 30 días luego del parto. GS= grupo suplementado con calcio, GNS= grupo no suplementado.....	40
Tabla 5. Concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en relación a los días postparto (DPP). Día 0: parto.....	47
Tabla 6. Concentración de $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) en relación a los días postparto (DPP). Día 0: parto.....	48

#### 4. ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Número de remitentes y volumen de leche diario por remitente (DIEA, 2018).....	14
Figura 2. Consumo de materia seca (CMS) y estado corporal (EC) de vacas multíparas en las semanas relativas al parto (Adaptado de Janovick y Drackley, 2010).....	18
Figura 3. Consecuencias de la hipocalcemia clínica y subclínica (Adaptado de Mulligan y col., 2006). CMS: consumo de materia seca, BEN: balance energético negativo.....	21
Figura 4. Receptor de la parathormona (PTH) en la superficie del hueso y las células renales en diversas circunstancias. A: en condiciones normales. B: en condiciones de alcalosis metabólica. C: en condiciones de hipomagnesemia. (Goff, 2008).....	22
Figura 5. Procesos intermedios en el hígado de importancia en el desarrollo de cetosis e hígado graso. AA: aminoácidos, CPT I: carnitin palmitoil transferasa I, FC+...: fosfatidilcolina y otros componentes que producen fosfolípidos, TG: triglicérido (Adaptado de Ingvarsen, 2006).....	28
Figura 6. Distribución de las vacas de acuerdo a los días en el parto.....	38
Figura 7. Evolución del pH de la orina en relación a los días en el parto. Letras diferentes en cada día, indican diferencias significativas entre las semanas.....	39
Figura 8. Concentración de calcio sérico en relación a los días al parto y el pH de orina una semana previa al mismo. GS= grupo suplementado con calcio, GNS= grupo no suplementado.....	40
Figura 9. Concentración de calcio sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	41
Figura 10. Concentración de calcio el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS). GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior en inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana.....	42
Figura 11. Concentración de calcio respecto a las horas postparto para cada tratamiento. GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior en inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana para cada caso.....	42

Figura 12.	Concentración de fósforo sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	43
Figura 13.	Concentración de fósforo el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS) .GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior en inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana .....	44
Figura 14.	Concentración de magnesio sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	45
Figura 15.	Concentración de magnesio el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS) .GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior en inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, la mediana no se observa en el gráfico porque coincide con el valor máximo de la caja (1,1 mMol/L)	45
Figura 16.	Relación Ca/P en los días relativos al parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	46
Figura 17.	Estado corporal en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	47
Figura 18.	Concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	48
Figura 19.	Concentración de $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.....	49

## 5. LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>.  
AGNE: ácidos grasos no esterificados.  
BEN: balance energético negativo.  
BHB: β-hidroxibutirato.  
Ca: calcio.  
CC: cuerpos cetónicos.  
Cl: cloro.  
ClCa<sub>2</sub>: cloruro de calcio.  
CMS: consumo de materia seca.  
DCAD: diferencia catión anión dietario.  
DPP: días postparto.  
EC: estado corporal.  
GH: hormona de crecimiento.  
HC: hipocalcemia clínica.  
HSC: hipocalcemia subclínica.  
IV: intravenoso/a.  
K: potasio.  
Mg: magnesio.  
Na: sodio.  
P: fósforo.  
PT: período de transición.  
PTH: parathormona.  
S: azufre.  
TG: triglicéridos.  
TMR: ración totalmente mezclada.  
VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.



## 6. RESUMEN

Las vacas lecheras pueden presentar reducción en la ingesta de materia seca y balance energético negativo durante las últimas semanas de gestación y más aún durante las primeras semanas postparto. Este desbalance puede desencadenar enfermedades metabólicas, siendo la principal la hipocalcemia ya que aumenta el riesgo a otras enfermedades. El objetivo de este trabajo fue estudiar la adaptación a dietas aniónicas preparto, así como evaluar el efecto de la suplementación oral de calcio al parto sobre la hipocalcemia clínica y subclínica y demás enfermedades del periparto en vacas lecheras multíparas. Se utilizaron 38 vacas de la raza Holando biotipo Americano de  $3,1 \pm 1$  lactancias, las cuales se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: Grupo suplementado (GS) y Grupo no suplementado (GNS). Ambos grupos recibieron el mismo manejo y alimentación (dieta aniónica) durante el preparto. Dentro de las 6 horas después del parto, las vacas del grupo GS ( $n = 19$ ) recibieron 420 g de propionato de calcio más 400 g de propilenglicol por vía oral. Las vacas del grupo GNS ( $n = 19$ ) no recibieron tratamiento. Se obtuvieron muestras de sangre en el preparto e inmediatamente después del parto (antes del tratamiento), y luego a las 24 y 48 horas, 15 y 30 días postparto (a ambos grupos), en las que se determinó la concentración sérica de calcio, fósforo, magnesio, ácidos grasos no esterificados y  $\beta$ -hidroxibutirato. Además, en el preparto se tomaron muestras de orina a las cuales se les midió el pH. Se registró el estado corporal de las vacas durante todo el período experimental. El pH de orina fue disminuyendo a medida que transcurrían los días en el preparto ( $p < 0,0001$ ). No se encontraron diferencias significativas en la concentración sérica de calcio ( $p = 0,13$ ), fósforo ( $p = 0,67$ ), magnesio ( $p = 0,13$ ), relación calcio/fósforo ( $p = 0,64$ ), ácidos grasos no esterificados ( $p = 0,51$ ),  $\beta$ -hidroxibutirato ( $p = 0,47$ ) y de estado corporal ( $p = 0,52$ ) entre los tratamientos. La dieta aniónica preparto no logró los resultados esperados, hecho que fue evidenciado en la reducción del pH de la orina a valores por encima de los esperados y por la alta incidencia de hipocalcemia clínica y subclínica. Se concluye además que la administración oral de 420 g de propionato de calcio y 400 g de propilenglicol, dentro de las 6 horas postparto, no previenen la hipocalcemia clínica y subclínica, ni las enfermedades asociadas al periparto.

## 7. SUMMARY

Dairy cows may reduce dry matter intake and may have negative energy balance during the last weeks of pregnancy, and even more during the first weeks postpartum. This imbalance can trigger different metabolic diseases, such as hypocalcemia which is considered as the main disease, since it increases the risk of other diseases. The aim of this work was to study the adaptation to anionic prepartum diets, and to evaluate the effect of oral calcium supplementation at calving, on clinical and subclinical hypocalcemia and other peripartum diseases in multiparous dairy cows. Thirty-eight cows (Holstein, biotype American) of  $3.1 \pm 1$  lactations were used, and were randomly distributed into two groups: Supplemented Group (GS) and Non-Supplemented Group (GNS). Both groups received the same management and feeding (anionic diet) during prepartum. The GS group cows ( $n = 19$ ) received 420 g of calcium propionate and 400 g of propylene glycol, orally, within 6 hours after calving. The GNS group cows ( $n = 19$ ) did not receive treatment. Blood samples were taken in the prepartum and immediately after calving (before treatment), and then at 24 and 48 hours, 15 and 30 days postpartum (both groups), in which the serum concentration of calcium, phosphorus, magnesium, non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate were determined. In addition, in prepartum, urine samples were taken and pH was measured. The body condition of the cows was registered through all the experimental period. The urine pH decreased as the days went by in prepartum ( $p = <0.0001$ ). Non-significant differences were found in the serum concentration of calcium ( $p = 0.13$ ), phosphorus ( $p = 0.67$ ), magnesium ( $p = 0.13$ ), calcium/phosphorus ratio ( $p = 0.64$ ), non-esterified fatty acids ( $p = 0.51$ ),  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $p = 0.47$ ) and body condition ( $p = 0.52$ ) between treatments. The anionic prepartum diet did not reach the expected results, a fact that was demonstrated by the decrease of urine pH to values above the expected and the high incidence of clinical and subclinical hypocalcemia. It is concluded that oral administration of 420 g of calcium propionate and 400 g of propylene glycol, within 6 hours postpartum, does not prevent clinical and subclinical hypocalcemia, nor the diseases associated at peripartum.

## 8. INTRODUCCIÓN

En los últimos años en Uruguay ha ocurrido un aumento de la producción de leche por remitente, con disminución de la superficie total de los tambos y un leve aumento en la cantidad de bovinos lecheros (DIEA, 2018). De esto se deduce que la producción individual de leche ha aumentado, lo que lleva a un mayor desafío metabólico y nutricional para la vaca lechera.

Uno de los momentos cruciales en el ciclo productivo de la vaca lechera es el período en transición, que se define como aquel que se presenta alrededor del parto, tres semanas antes y tres semanas después del mismo (Drackley, 1999). Este periodo de tiempo se acompaña de importantes cambios metabólicos y hormonales que superan a cualquier otra etapa de su ciclo productivo (Ingvarsen y col., 2003). En las 2 a 4 semanas preparto se produce un aumento de las necesidades energéticas debido al desarrollo del feto y a la producción de calostro, esto se acompaña de una disminución en la ingesta de materia seca. Estas dos circunstancias son responsables del balance energético negativo que se inicia unas semanas antes del parto (Garmendia, 2005).

Las condiciones fisiológicas asociadas con un insuficiente suministro de energía y una baja en la inmunidad, predisponen tanto a enfermedades metabólicas e infecciosas, como ser hipocalcemia, metritis, cetosis, desplazamiento del abomaso y retención de membranas fetales (Drackley, 1999).

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica que se desarrolla entre 24 horas previas al parto y 72 horas postparto cuando los mecanismos homeostáticos que mantienen los niveles de calcemia no son capaces de reemplazar el calcio perdido al inicio de la lactancia (Espino y col., 2004).

Para retirar calcio del hueso se necesita de la parathormona que es estimulada cuando baja la calcemia. La reabsorción renal de Ca también está mediada por esta hormona, aunque las cantidades recuperadas por este medio, son mínimas. Se requiere de la 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub> para estimular la absorción intestinal de Ca dietético, pero ésta actúa solo en respuesta a un aumento de la parathormona (PTH) en sangre. La hipocalcemia se produce si estos mecanismos no son suficientes para mantener la normocalcemia, cuando se presenta una alcalosis metabólica o hipomagnesemia que altera la actividad de la PTH (Goff, 2008).

El signo predominante de la hipocalcemia clínica es una parálisis de tipo flácida, debido a que el calcio interviene en la contracción de las fibras musculares y en la transmisión de los impulsos nerviosos (Goff, 2008). Otros signos también incluyen inapetencia, dificultad para defecar y orinar, adopción de decúbito lateral, estado comatoso y muerte (Horst y col., 1997).

La hipocalcemia clínica afecta aproximadamente al 5% de las vacas lecheras cada año (NAHMS, 2002) y la hipocalcemia subclínica puede afectar a la mitad de las vacas múltiparas (Horst y col., 2003). La hipocalcemia causa

un aumento en la incidencia de otras enfermedades como mastitis, retención de membrana fetales, desplazamiento de abomaso, distocias y cetosis, lo cual agrava el balance energético negativo y afecta la vida productiva de las vacas (Corbellini, 2000). También disminuye la inmunidad del animal aumentando la probabilidad de contraer enfermedades infecciosas como mastitis y metritis (Reinhardt y col., 2011). Las pérdidas económicas asociadas con las enfermedades alrededor del parto tienen un elevado costo, por pérdida de producción de leche, disminución de la eficiencia reproductiva, gastos en honorarios veterinarios, aumento de mano de obra, productos farmacéuticos, y pérdidas de animales por descarte o muerte (Corbellini, 2000; Van Saun, 2010).

La cetosis es un desbalance multifactorial en el uso de la grasa corporal en la lactación temprana. Se caracteriza bioquímicamente por hipoglicemia e hipercetonemia y clínicamente con emaciación, disminución del apetito, descenso del estado corporal y de la producción láctea, algunas vacas tienen cortos periodos de anomalías neurológicas y conductuales (Radostits y col., 2002).

Los niveles de glucosa en sangre insuficientes, producen una disminución de la insulina sanguínea que provoca movilización de reservas energéticas (tejido adiposo), resultando en un aumento en los ácidos grasos no esterificados en sangre. Estos últimos pueden ser utilizados directamente como fuente de energía, metabolizados en el hígado a cuerpos cetónicos o convertidos en triglicéridos. Cuando el hígado está saturado de ácidos grasos no esterificados, los cuerpos cetónicos se producen en exceso (Calsamiglia, 2000; Herdt, 2000).

Para reducir el impacto del balance energético negativo en la vaca y prevenir la hipocalcemia es necesario un buen manejo del parto. Esto comienza con la administración de dietas aniónicas preparto para prevenir la hipocalcemia (Espino y col., 2004) y a su vez lograr la adaptación del rumen a una dieta rica en concentrados como van a tener en la lactancia, previniendo con esto la acidosis ruminal (Calsamiglia y Ferret, 2002).

Las dietas aniónicas se administran entre dos a tres semanas antes del parto, utilizando sales aniónicas basadas en la diferencia que existe entre los cationes (sodio y potasio) y los aniones (cloro y azufre) de la dieta, lo que se conoce como diferencia catión anión dietario. Lo más recomendado es una diferencia catión anión negativa de -50 a -100 mEq/kg de materia seca (Horst y col., 1997). Se espera que estas provoquen una leve acidosis metabólica lo que incrementa la respuesta de los tejidos a la parathormona, mejora la absorción intestinal de calcio y aumenta la reabsorción ósea de calcio (Espino y col., 2004). El control de la eficacia de dietas aniónicas se realiza midiendo el pH urinario, el cual se debe encontrar entre 6,2 y 6,8 para que sean efectivas y no debe bajar a más de 5,5 ya que pueden aparecer signos clínicos de acidosis metabólica (Horst y col., 1997; Goff y Horst 2003).

Estos manejos en el parto aún no han logrado corregir los problemas de la hipocalcemia subclínica. En este sentido en el trabajo reportado por

Reinhardt y col. (2011), se demostró una alta incidencia de hipocalcemia subclínica que fue mayor aún en vacas multíparas con varias lactancias. Por estos motivos, en los últimos años se encuentran disponibles productos comerciales que buscan la suplementación oral de calcio inmediatamente luego del parto para corregir los bajos niveles de calcio sanguíneo. Por ejemplo, la administración de geles de propionato de calcio oral se utiliza para el tratamiento de la hipocalcemia. Muchos de estos productos comerciales además contienen propilenglicol, el cual actúa como fuente rápida de glucosa y energía en casos de cetosis, actuando como precursor de la gluconeogénesis a nivel hepático, aportando energía y reduciendo el balance energético negativo y sus efectos (Christensen y col., 1997).

Varios experimentos han evaluado el efecto de la administración oral de calcio sobre la lactancia y performance reproductiva, siendo los resultados inconsistentes (Martínez y col., 2016). En el experimento de Martínez y col. (2016) la suplementación de Ca oral tuvo efecto positivo en vacas multíparas reduciendo la incidencia y prevalencia de hipocalcemia subclínica y aumentando la tasa de preñez; sin embargo, en vacas primíparas el efecto fue negativo. Goff y col. (2002) observaron que administrando calcio oral luego del parto los niveles de calcemia aumentaban y alcanzaban los valores normales, pero otros autores (Oetzel y Miller, 2012; Salgado y col., 2009) no encontraron efecto de las dosificaciones orales de calcio sobre el nivel de calcio en sangre.

Actualmente en Uruguay no se conocen trabajos que hayan estudiado el efecto de la suplementación oral de calcio postparto en vacas lecheras con los productos comerciales disponibles, sin embargo, muchos establecimientos lo utilizan de forma rutinaria sin saber si cumple el efecto deseado. Es por esto que el objetivo de este ensayo experimental fue estudiar en primer lugar, la adaptación de vacas lecheras multíparas a dietas preparto acidógenas mediante la evaluación del pH de orina. En segundo lugar, se planteó como objetivo evaluar el efecto de la suplementación oral con un producto comercial a base de calcio y propilenglicol. La concentración sanguínea de calcio, fósforo, magnesio se midió para evaluar la hipocalcemia clínica y subclínica, y su relación con otras enfermedades del periparto. El  $\beta$ -hidroxibutirato y los ácidos grasos no esterificados, junto con el estado corporal se midieron con el objetivo de evaluar el balance energético negativo y la ocurrencia de cetosis.

## 9. REVISION BIBLIOGRÁFICA

### 9.1. Producción de leche en Uruguay

En nuestro país existen 3718 establecimientos lecheros, los cuales ocupan una superficie total de 827 mil hectáreas. El número de estos ha disminuido desde el período 2009/2010 hasta el 2016/2017, mientras que la superficie total disminuyó hasta el 2015/2016, aumentando en el último período (2016/2017). En este último el número de vacas en ordeño alcanzó las 320 mil (DIEA, 2018).

Se producen 2049 millones de litros de leche, de los cuales 1748 millones de litros se remiten a plantas. La producción de leche y el número de remitentes a industria en Uruguay viene disminuyendo desde hace cinco períodos, mientras que el volumen de leche diario por remitente ha ido en aumento (DIEA, 2018) (Figura 1).

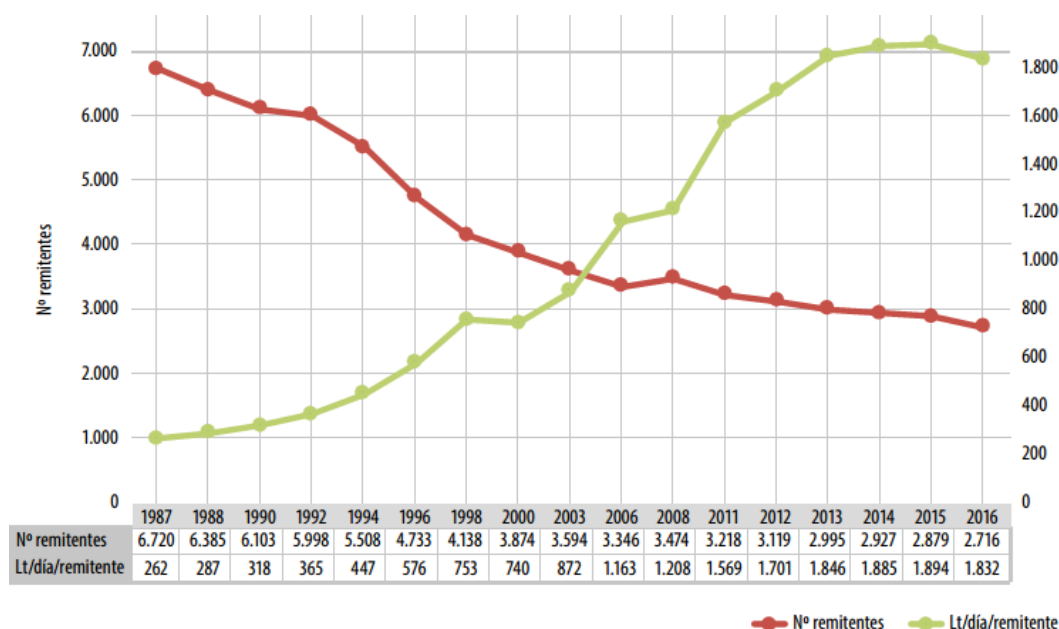


Figura 1. Número de remitentes y volumen de leche diario por remitente (DIEA, 2018).

La gran mayoría de los tambos en nuestro país producen leche con animales alimentados a base pastoril, a cielo abierto. La raza más utilizada es Holando americano y canadiense, que representa el 83% del total (INALE, 2014).

### 9.2. Periodo de transición

Uno de los momentos cruciales en el ciclo productivo de la vaca lechera es el periodo de transición (PT), que se define como aquel que se presenta alrededor del parto, tres semanas antes y tres semanas después del mismo, donde la preñez, la disminución del consumo de alimento, la lactogénesis y el parto tienen efectos importantes sobre el metabolismo de las vacas lecheras (Grummer, 1995). Al final de la gestación y al principio de la lactancia, la

demanda de energía, proteínas y minerales aumenta considerablemente. Al final de la preñez lo hace como resultado del desarrollo fetal y de la producción de calostro, mientras que en el inicio de la lactancia es debido a la producción de este último, y además a la producción de leche (Bell, 1995; Goff y Horst, 1997). Los altos requerimientos en este período se acompañan de una disminución en el consumo de materia seca (CMS); estas dos circunstancias son las que determinan el balance energético negativo (BEN) alrededor del parto (Drackley, 1999; Garmendia, 2005). Ingvarsen y col. (2003) señalan que los cambios metabólicos y hormonales de esta etapa superan cualquier otra del ciclo productivo de la vaca lechera.

En el PT también aumenta el riesgo a las enfermedades de producción (clínicas o subclínicas). Esto se debe en parte, a que algunas vacas tienen dificultad para adaptarse al período de lactación y en consecuencia sufren un desequilibrio fisiológico, una situación en la que los mecanismos de regulación homeostáticos y homeoréticos son insuficientes para que el animal se adapte normalmente, afectándose la función del tracto digestivo, el estado metabólico e inmune (Ingvarsen, 2006). Para evitar esta situación se deben mantener tres funciones fisiológicas básicas durante el PT: la adaptación del rumen a las dietas de lactancia que son altas en densidad energética, el mantenimiento de la normocalcemia y de un adecuado sistema inmune (Goff y Horst 1997).

Así es entonces que las vacas en transición enfrentan el desafío del BEN que las puede llevar a una acidosis ruminal subaguda, complejo cetosis-hígado graso, alteración de la utilización de minerales donde pueden desarrollar hipocalcemia clínica o subclínica, y alteración de la función inmune que las lleve a tener retención de placenta, metritis y/o mastitis. En consecuencia, el BEN y la reducción en el CMS se agravan. Los efectos combinados de estos desafíos son la reducción de la fertilidad y la producción de leche que resulta en la disminución de las ganancias (Esposito y col., 2014); por lo tanto, el éxito en la prevención y control de las afecciones van a determinar la rentabilidad de la empresa durante esa lactancia.

#### 9.2.1. Cambios endocrinos

Numerosos aspectos de la lactancia, crecimiento y reproducción de los animales están afectados directa o indirectamente por la hormona del crecimiento (GH) (McGuire y col., 1992; Jones y Clemmons, 1995; Spicer y Echternkamp, 1995; Etherton y Bauman, 1998). En el tejido adiposo, la GH aumenta la lipólisis y las concentraciones de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en la sangre. En el hígado, el aumento de GH tiene un efecto directo estimulando la gluconeogénesis que cumple con los requisitos de síntesis de lactosa mamaria, y un efecto indirecto a través del antagonismo de la acción de la insulina (Bell, 1995; Etherton y Bauman, 1998). Las acciones fisiológicas de la GH se inician cuando ésta se une a su receptor en las células del hígado y tejido adiposo principalmente (Lucy y col., 2001). Durante el BEN disminuye la expresión del receptor de la GH en el hígado, lo que lleva a una menor acción de la misma, causando la disminución en la secreción del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) y así se produce una retroalimentación positiva para la mayor secreción de GH. Este mecanismo

comienza a funcionar normalmente cuando la vaca aumenta el CMS, si no lo hace puede predisponerla al complejo cetosis-hígado graso (Lucy y col., 2001). La movilización extensa del tejido corporal, principalmente del tejido adiposo, con el fin de satisfacer las demandas de nutrientes para el mantenimiento y la producción de leche, se caracteriza por el aumento de las concentraciones circulantes de AGNE liberados principalmente del tejido adiposo, concentraciones circulantes aumentadas de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) que reflejan una oxidación incompleta de ácidos grasos en el hígado, y concentraciones disminuidas de glucosa en el torrente sanguíneo lo que puede influir en el sistema inmune (Drackley, 1999).

En los trabajos de Holtenius y col. (2003) y Meikle y col. (2004) se encontraron concentraciones de insulina disminuidas alrededor del parto, debido a la reducción del CMS (Bertics y col., 1992). En algunos estudios (Meikle y col., 2004, Cavestany y col. 2009), las concentraciones de insulina alcanzaron los niveles normales a los 30 días postparto. Sin embargo, en otros (Pereira y col., 2010; Adrien y col., 2012) no lo hicieron durante el período experimental (45-60 días postparto).

La leptina, hormona secretada por el tejido adiposo, actúa como una señal de reserva de energía para las regiones hipotalámicas que controlan el comportamiento de la alimentación, el metabolismo y la función endócrina para mantener la homeostasis energética (Chilliard y col., 2001). Normalmente las vacas lecheras pierden más del 60% de su grasa corporal en la lactación temprana (Tamminga y col., 1997) disminuyendo las concentraciones de leptina (Delavaud y col., 2002; Meikle y col., 2004). Se ha demostrado que esta comienza a disminuir 20 días antes del parto (Kadokawa y col., 2000, Block y col., 2001, Liefers y col., 2003; Meikle y col., 2004) y se mantiene baja hasta dos meses después del mismo (Meikle y col., 2004). Al alcanzar sus valores normales influye en la activación del eje hipotálamo-hipófisis y el reinicio en la ciclicidad ovárica de la vaca postparto. Esto permite que las vacas que tienen el EC deseado en el parto, tengan una mayor concentración de leptina en sangre durante la lactancia temprana y a su vez buenos resultados reproductivos (Meikle y col., 2004).

Los altos niveles plasmáticos de progesterona durante la gestación, disminuyen rápidamente al momento del parto y van acompañados de un aumento transitorio de estrógenos y glucocorticoides. Estos cambios hormonales no solo contribuyen a la disminución del CMS, sino que también promueven cambios metabólicos que favorecen la movilización de reservas de grasa corporal (Drackley y col., 2005; Ingvarsen, 2006). Las concentraciones plasmáticas de cortisol de la vaca aumentan al parto y al día después. La respuesta de la secreción de cortisol es aún más pronunciada en las vacas que desarrollan hipocalcemia (Goff y col., 1989).



### 9.2.2. Cambios en el consumo de materia seca y balance de energía

A pesar de que los requerimientos de nutrientes del feto alcanzan niveles máximos tres semanas antes del parto, y que el CMS disminuye hasta un 30% (Bell, 1995; Grummer, 1995), el mayor BEN se da en la semana posterior al parto (Grummer, 1995). Según Drackley (1999) los requerimientos en vacas sanas a los 4 días postparto exceden la ingesta, donde la energía neta para lactación utilizada por la glándula mamaria representa el 97%, con lo que queda un 3% para cubrir las necesidades de mantenimiento de la vaca. Las altas demandas de nutrientes se acompañan de la movilización de las reservas corporales y las vacas entran en un estado de BEN fisiológicamente inevitable (Grummer y col., 2004; Ingvarlsen, 2006). Esto se ve agravado por factores adicionales como el estrés o el manejo, que reducen aún más el CMS (West, 2003; Rhoads y col., 2009). Ingvarlsen y col. (2003) afirman este concepto diciendo que el balance de energía no depende solo de la alta producción de leche en la lactación temprana, sino que es una función tanto del consumo de alimento como de la producción de leche, por lo que una vaca con producción relativamente baja puede ser más propensa a sufrir una enfermedad de producción específica si está expuesta a estresores nutricionales o ambientales relevantes, que una vaca de alto potencial de producción de leche, no expuesta al mismo estresor.

La dieta de la mayoría de las vacas lecheras cambia drásticamente al momento del parto, pasa de ser principalmente a base de forrajes a dietas ricas en concentrados (Esposito y col., 2014). El consumo de alimento antes del parto se correlaciona positivamente con el consumo postparto, por lo tanto, los esfuerzos para maximizar el consumo deben comenzar antes del parto. El aumento de la densidad de nutrientes en la dieta durante el PT puede mejorar el consumo, y administrar más carbohidratos fermentables durante el preparto puede adaptar la población microbiana a las dietas de lactancia, promover el desarrollo de las papilas ruminales y aumentar la capacidad de absorción del epitelio ruminal (Grummer, 1995). Janovick y Drackley (2010) evaluaron 3 dietas preparto, una con consumo *ad libitum*, otra con consumo restringido y una dieta control, para suministrar 150, 80 y 100% del requerimiento de energía respectivamente. Las vacas que consumieron *ad libitum* perdieron más estado corporal (EC) que las demás y durante las primeras tres semanas del postparto el CMS fue menor. Más tarde, Graugnard y col. (2012) evaluaron el efecto de la alimentación preparto utilizando dos dietas, una para cumplir los requerimientos de energía y otra para exceder los mismos. Ellos concluyeron que las vacas sobrealimentadas tuvieron un mayor BEN durante la primera semana postparto. Contreras y col., (2004) afirman que el manejo de las vacas para lograr un puntaje de EC de aproximadamente 3,0 al secado es mejor que 3,5-3,75, lo que apoya el concepto de Grummer (1995) de que las vacas con excesivo EC pueden ser más susceptibles a una disminución preparto en la ingesta de alimento. Roche y col. (2009) afirman que las vacas deben parir con un EC entre 3,0 y 3,25. El EC puede ser medido en una escala que va del 1 al 5 con fracciones de 0,25, en la que 1 significa un animal extremadamente flaco y 5 uno extremadamente obeso (Edmonson y col., 1989; Ferguson y col., 1994). En la Figura 2 se muestra la gráfica de CMS y EC en el período de transición.

Se ha encontrado relación entre cuánto comen las vacas poco después del parto y la incidencia de problemas metabólicos. Zamet y col. (1979) encontraron que el CMS para vacas que experimentaron problemas de salud fue un 18% más bajo en el preparto y un 20% más bajo en el postparto en relación con las vacas sanas. También el menor consumo de agua se correlaciona con un menor CMS, lo que puede exacerbar el BEN (Daros y col, 2017).

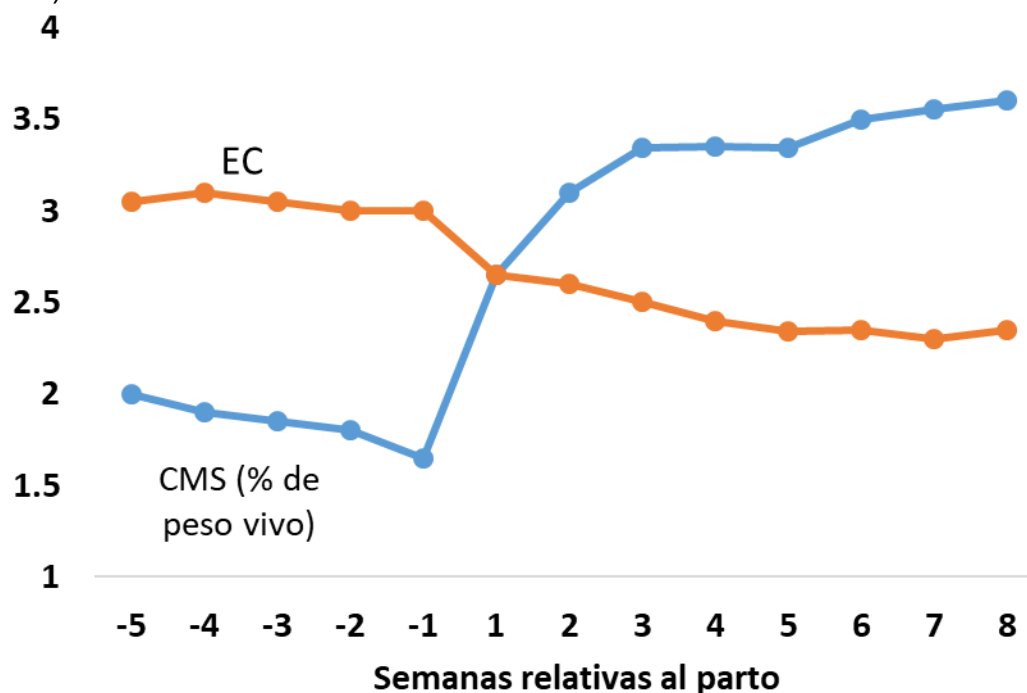


Figura 2. Consumo de materia seca (CMS) y estado corporal (EC) de vacas multíparas en las semanas relativas al parto (Adaptado de Janovick y Drackley, 2010).

### 9.2.3. Inmunosupresión de la vaca lechera en el periparto

La inmunosupresión natural ocurre en la mayoría de las vacas al final de la preñez y en la lactancia temprana (Goff y Horst, 1997) y se cree que esta es la principal razón de la alta prevalencia de enfermedades en el postparto temprano, principalmente retención de placenta, metritis y/o mastitis (Kimura y col., 2002; Le Blanc, 2008). La función de los neutrófilos, que son parte de la primera línea de defensa contra los microorganismos invasores, se reduce en este momento, incluida la quimiotaxis, la fagocitosis y el estallido oxidativo (Paape y col., 2002; Schukken y col., 2011). Además, el número, la proliferación y la capacidad de respuesta de los linfocitos se reduce durante el PT (Kehrli y col, 2009). El entorno hormonal cambiante, especialmente los aumentos en los glucocorticoides circulantes en el parto, se han asociado con la inmunosupresión natural observada en este momento (Burton y col., 2005; Weber y col., 2006). Se ha demostrado que la glucosa tiene efectos estimulantes sobre la respuesta inmune, que incluyen una mayor proliferación y diferenciación de leucocitos y una mejor quimiotaxis y fagocitosis de los neutrófilos (Gamelli y col., 1996). La concentración de glucosa es baja durante el período postparto temprano y esto también puede explicar en parte la inmunosupresión (Ingvarsen y Moyes, 2015). También se ha demostrado que los cuerpos cetónicos (CC), tienen un impacto negativo en la respuesta inmune (Grinberg y col., 2008; Ingvarsen y Moyes, 2013).

### 9.3. Enfermedades del periodo de transición

Además de las alteraciones metabólicas, endocrinas y del sistema inmunitario experimentadas por las vacas lecheras en el PT, también es probable que se presenten factores estresantes ambientales derivados de los cambios en el grupo, que están asociados con el manejo de los lotes de vacas secas y lactantes. Cuando estos efectos se combinan con los esfuerzos del parto, es de esperar que el período de mayor riesgo de enfermedad de producción sea el período inmediatamente posterior al parto, sobre todo en las primeras dos semanas de lactancia (Goff y Horst, 1997; Mulligan y Doherty, 2008).

Las pérdidas económicas asociadas con las enfermedades alrededor del parto son elevadas, ya sea por pérdida de producción de leche, disminución de la eficiencia reproductiva, gastos en honorarios veterinarios, aumento de mano de obra, productos farmacéuticos, y/o pérdidas de animales por descarte o muerte (Corbellini, 2000; Van Saun, 2010). Las enfermedades de producción individual de la vaca de transición no se consideran de forma aislada. La hipocalcemia, retención de placenta, metritis, cetosis, hígado graso y el desplazamiento del abomaso están interrelacionadas etiológicamente (Ingvarsen y col. 2003).

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica que se desarrolla entre 24 horas previas al parto y 72 horas postparto (Espino y col., 2004) cuando los mecanismos homeostáticos que mantienen los niveles de calcemia no son capaces de reemplazar el Ca perdido al inicio de la lactancia.

El metabolismo de los diferentes minerales sufre importantes variaciones durante el PT, sobre todo de calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) ante los cambios que impone la lactancia.

El Ca es el mineral que sufre mayores cambios en el periparto. El feto necesita 5,3 g de Ca por día, mientras que para la secreción de calostro se requieren entre 13 y 18 g por día, que varía con la producción individual de leche (Alonso y González, 1997; Corbellini, 2000). Tras el parto, las necesidades totales de Ca aumentan abruptamente pasando a ser de 10 a 15 g/día a 30, 50 o más g/día (Corbellini, 1998). En el periodo seco, cuando los requerimientos de Ca son mínimos, los mecanismos homeostáticos se encuentran relativamente inactivos (Horst y col., 1997). En el periparto, casi todas las vacas tienen un desequilibrio en la regulación de Ca en sangre, sin ser una verdadera deficiencia (Corbellini, 2000, DeGaris y Lean, 2009). Existe una coordinación entre el hígado, riñón, intestino delgado y hueso a través de la acción de hormonas que tienen como resultado el aumento de la calcemia como la parathormona (PTH) y la 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) (Corbellini, 1999). Para retirar Ca del hueso se necesita de la PTH que es estimulada cuando baja la calcemia. La reabsorción renal de Ca también está mediada por esta hormona, aunque las cantidades recuperadas por este medio, son mínimas. Se requiere de la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> para estimular la absorción intestinal de Ca dietético, pero ésta actúa solo en respuesta a un aumento de la PTH en sangre (Goff, 2008). La producción del calostro requiere altas cantidades de Ca, derivando este mineral a la glándula mamaria

más rápido de lo que puede ser suplido por la absorción intestinal o la movilización desde la reserva ósea (Blas y col., 1998).

En el animal sano al momento del parto, las concentraciones de Ca y P disminuyen levemente (Albornoz, 2006) y luego se recuperan; es lo que se llama hipocalcemia fisiológica, pero cuando el descenso es intenso por insuficiente capacidad de movilización de Ca, se produce clínicamente la enfermedad (Albornoz y col., 2016). La hipocalcemia clínica (HC) afecta aproximadamente al 5% de las vacas lecheras cada año (NAHMS, 2002) y la hipocalcemia subclínica (HSC) puede afectar a la mitad de las vacas multíparas (Horst y col., 2003). En Uruguay, datos de Pereira y col. (2017) indican que un 2% de las vacas de los tambos evaluados presentaron HC, mientras que un 62% presentaron HSC.

A pesar de que la gravedad de la enfermedad es mayor en los casos clínicos, los casos subclínicos también son importantes porque son más frecuentes y no pueden diagnosticarse fácilmente (Goff, 2008; Murray y col., 2008).

La hipocalcemia es una enfermedad que causa graves pérdidas económicas, fundamentalmente por costos de tratamientos, muertes (Horst y col., 1997), complicaciones secundarias (Corbellini, 1998) y por reducción de la vida productiva de la vaca lechera (Alonso y González 1997; Horst y col., 1997). En Uruguay no existen datos sobre evaluación de pérdidas económicas por hipocalcemia (Albornoz y col., 2016).

La hipocalcemia predispone a otras enfermedades (Mulligan y Doherty, 2008) ya que las concentraciones plasmáticas de Ca se vuelven demasiado bajas para apoyar la función nerviosa y muscular (Goff y Horst, 1997) lo que reduce la contractibilidad muscular, comenzando con la musculatura lisa, disminuyendo la motilidad del rumen y del abomaso, causando un aumento en la incidencia de desplazamiento de abomaso y disminuyendo el CMS (Corbellini, 2000). La disminución en la contracción muscular impide el cierre del esfínter del pezón, que en combinación con la disminución de la inmunidad aumenta la probabilidad de contraer mastitis (Goff, 2008; Reinhardt y col., 2011). Esta inmunosupresión también predispone a retención de placenta y metritis (Reinhardt y col., 2011). En la Figura 3 se muestran las consecuencias de la hipocalcemia clínica y subclínica.

Además, una baja concentración de Ca sérico impide la secreción de insulina lo que dificulta la absorción de glucosa por los tejidos provocando la movilización de lípidos en el parto, aumentando así el riesgo de cetosis (Goff y Horst, 1997, Goff, 2008).

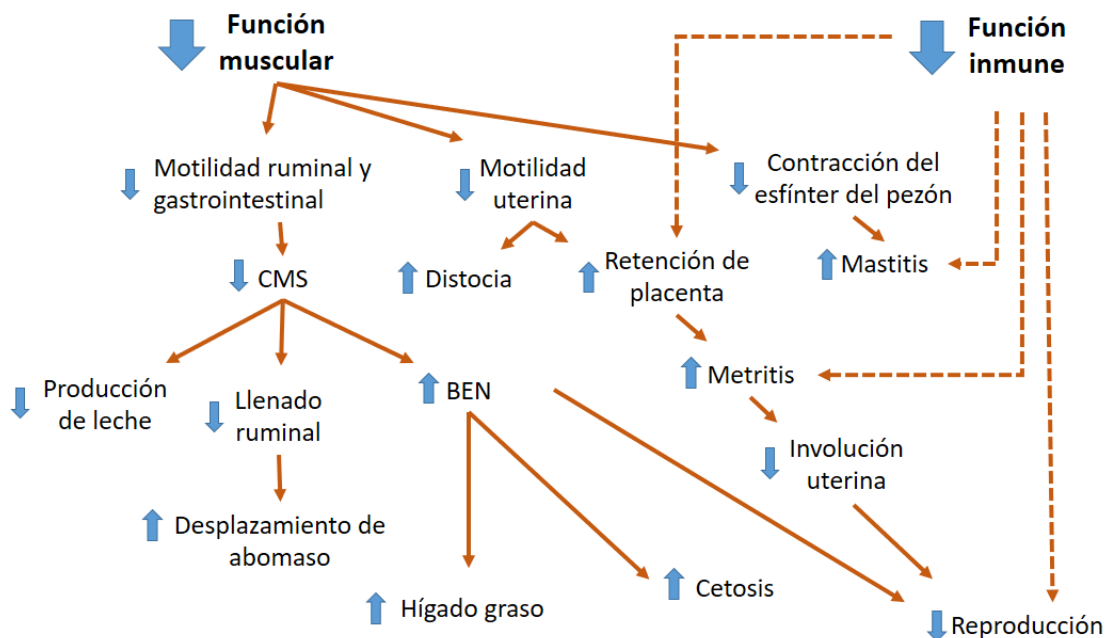


Figura 3. Consecuencias de la hipocalcemia clínica y subclínica (Adaptado de Mulligan y col., 2006). CMS: consumo de materia seca, BEN: balance energético negativo.

Reinhardt y col. (2011) establecen que a medida que aumenta el número de lactancias disminuye significativamente la concentración sérica de Ca. Varios factores contribuyen a que la edad avanzada sea un importante factor predisponente de la hipocalcemia, tales como que las vacas adultas producen más leche y esto provoca una mayor demanda de Ca, un descenso de la habilidad para movilizar el Ca de los huesos, una disminución del transporte activo de Ca en el intestino y una menor producción de 1,25(OH)2D3. Colectivamente todos estos problemas producen una falta de respuesta a las necesidades de Ca (Horst y col., 1997). Cuando los niveles de Ca en la dieta son altos o la relación Ca/P no es la adecuada (2:1) se ha notado una alta incidencia de la enfermedad (Horst y col., 1997). Goff (2008) establece que en el preparto el Ca en la dieta debe encontrarse entre 8,5 y 10 g/Kg (0,85 y 1%) de materia seca, mientras que Corbellini (2000) indica niveles de Ca de 80 a 100g/vaca/día como ideales. Houe y col. (2001) notaron que tenían mayor riesgo de hipocalcemia clínica aquellas vacas con EC mayor a 4.

La hipocalcemia se produce si los mecanismos homeostáticos no son suficientes para mantener la normocalcemia, cuando se presenta principalmente una alcalosis metabólica, hipomagnesemia e hiperfosfatemia que altera la actividad de la PTH (Goff, 2008) (Figura 4).

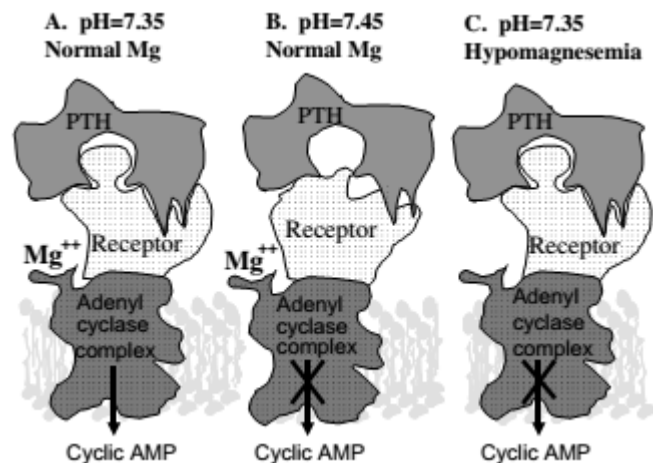


Figura 4. Receptor de la parathormona (PTH) en la superficie del hueso y las células renales en diversas circunstancias. A: en condiciones normales. B: en condiciones de alcalosis metabólica. C: en condiciones de hipomagnesemia. (Goff, 2008).

La alcalosis metabólica predispone a la hipocalcemia porque altera la conformación del receptor de la PTH, haciendo que los tejidos sean menos sensibles a la hormona. La falta de respuesta de la PTH por parte del tejido óseo evita la utilización eficaz del Ca del líquido canalicular del hueso y evita la activación de la resorción ósea. La falla de los riñones para responder a la PTH también reduce la reabsorción renal de Ca y los riñones no pueden convertir la 25-hidroxivitamina D en 1,25(OH)2D3. Por lo tanto, no se produce la absorción intestinal de Ca dietético que normalmente ayuda a restaurar el Ca sanguíneo a la normalidad (Goff, 2008).

La alcalosis metabólica es en gran parte el resultado de una dieta que suministra más cationes [sodio (Na) y potasio (K)] que aniones [cloro (Cl) y azufre (S)] a la sangre (Goff, 2008). La reducción del número de cationes dietéticos absorbibles y/o el aumento del número de aniones dietéticos absorbibles disminuye en gran medida la incidencia de hipocalcemia (Ender y col., 1971; Block, 1984). En teoría, todos los cationes y aniones en una dieta son capaces de influir en la carga eléctrica y por lo tanto, en el pH de la sangre.

Las dietas aniónicas están basadas en la diferencia que existe entre los cationes y los aniones de la dieta, lo que se conoce como Diferencia Catión Anión Dietario (DCAD) y se calcula con la fórmula  $DCAD (mEq/kg) = mEq/kg (Na^+ + K^+) - mEq/kg (Cl^- + S^{-2})$ . Lo más recomendado es un DCAD negativo de -50 a -100 mEq/kg de materia seca (Horst y col., 1997). Se espera que estas provoquen una leve acidosis metabólica lo que incrementa la respuesta de los tejidos a la PTH, mejora la absorción intestinal de calcio y aumenta la reabsorción ósea del mismo (Espino y col., 2004).

El pH del organismo bajo condiciones normales, se mantiene entre 7,35 y 7,40. Cuando se suministra una dieta con DCAD negativo a vacas secas al final de la gestación, se produce un ingreso excesivo de aniones en el organismo del animal. Para neutralizar los aniones, como respuesta fisiológica a mantener un balance neutro, se liberan 2 hidrogeniones provocando una bajada del pH, una leve acidificación de la orina y una mayor excreción de Ca,

reduciéndose los niveles de este en la sangre y provocando que el organismo active sus mecanismos homeostáticos de extracción de Ca mucho antes del momento del parto (Blas y col., 1998).

El control del suministro de dietas aniónicas se realiza midiendo el pH urinario, el cual se debe encontrar entre 6,2 y 6,8 para que sean efectivas y no debe bajar de 5,5 ya que pueden aparecer signos clínicos de acidosis metabólica (Horst y col., 1997; Goff y Horst, 2003). El pH de la orina se puede controlar 48 horas o más después de un cambio en la ración. Las dietas aniónicas se administran durante las últimas tres semanas antes del parto, aunque el tiempo que estas dietas necesitan para inducir una acidosis metabólica compensada no es más de 4-5 días (Goff, 2008).

Está muy claro que la hipomagnesemia es un hecho de riesgo significativo para el desarrollo de hipocalcemia, y la concentración de Mg de la dieta se ha citado como el factor dietético más importante que la afecta (Lean y col., 2006). La concentración de este ion en plasma es normalmente entre 0,75 y 1,0 mMol/L (Goff, 2008). Concentraciones de Mg en la sangre <0,65 mMol/L aumentarán la susceptibilidad de las vacas a la hipocalcemia (Van de Braak y col., 1987).

La hipomagnesemia afecta el metabolismo del Ca de dos maneras: primero, al reducir la secreción de PTH en respuesta a la hipocalcemia (Littledike y col., 1983 citado por Goff, 2008) y, en segundo lugar, al reducir la sensibilidad tisular a la PTH (Rude, 1998) ya que el funcionamiento del receptor de la misma depende del Mg (Goff, 2008).

El mantenimiento de la concentración normal de Mg en plasma depende casi totalmente de un flujo constante en la dieta, y su absorción desde el rumen depende de la concentración en el fluido ruminal y la integridad del mecanismo de transporte (Martens y Gabel, 1986 citado por Goff, 2008). La concentración en el fluido del rumen depende obviamente del contenido de Mg de la dieta, sin embargo, la solubilidad disminuye drásticamente a medida que el pH del rumen aumenta por encima de 6,5 y la solubilidad puede ser un problema en las dietas de mayor forraje (Goff, 2008).

El transporte activo de Mg a través de la pared del rumen es necesario cuando no es abundante en la dieta. Desafortunadamente, la alta concentración de K en el fluido del rumen despolariza la membrana del epitelio ruminal reduciendo el potencial electromotriz necesario para conducir Mg a través de la pared del rumen (Martens y Schweigel, 2000). Por lo tanto, una ración que de otro modo sería adecuada en Mg da como resultado un estado de deficiencia del mismo cuando el K en la dieta es excesivo (Goff, 2008).

Existe una segunda vía para la absorción de Mg que no se ve afectada por el K. Lamentablemente, este proceso de transporte pasivo solo funciona a altas concentraciones de Mg en el fluido del rumen, lo que permite que este fluya por un gradiente de concentración hacia los fluidos extracelulares (Martens y Schweigel, 2000).

Por lo tanto, el contenido de Mg de la ración de la vaca seca y la de lactancia temprana debe estar entre 3,5 y 4 g/kg (0,35% y 0,4%) para asegurar que los procesos de transporte pasivo para la absorción de Mg no se vean afectados. El muestreo sanguíneo de varias vacas dentro de las 12 horas

posteriores al parto proporciona un índice efectivo del estado de Mg en el periparto (Goff, 2008).

Por lo general, el efecto de la PTH en el riñón, secretada para controlar la hipocalcemia al momento del parto aumenta el umbral de excreción renal, lo que eleva la concentración de Mg en la sangre si hay para ahorrar en la dieta. Si la concentración sérica no es  $\geq 0,8$  mMol/L, sugiere una absorción dietética inadecuada de Mg y esa hipomagnesemia puede estar limitando la productividad y contribuyendo a la hipocalcemia (Goff, 2008).

Las vacas con Mg en sangre entre 0,5 y 0,8 mMol/L, tienen pocos síntomas clínicos obvios, aunque a menudo disminuyen el CMS y la producción de leche. Los signos clínicos de hipomagnesemia (decúbito, convulsiones y nistagmo) solo se observan cuando el Mg de la sangre cae  $< 0,4-0,5$  mMol/L. La tetania generalmente está acompañada de hipocalcemia grave, por lo que el tratamiento eficaz implica tratar a la vaca con ambas sales de Mg y Ca por vía intravenosa (IV), pero lentamente. La hipomagnesemia se puede prevenir al aumentar el contenido de Mg en la dieta y asegurar que sea una forma disponible (Goff, 2008).

El P también es un predictor de significancia para la hipocalcemia, ya que se vio que a medida que aumenta la concentración de este mineral en las dietas preparto, aumenta el riesgo de padecer dicha patología. Según el NRC (2001) la concentración de P requerida en la dieta de gestación tardía es generalmente alrededor de 4 g/kg (0,4%), pero Lean y col. (2006) afirman que aumentando la concentración de P de 0,3% a 0,4% se incrementa el riesgo de hipocalcemia en un 18%. El suministro de una dieta con más de 80 g/día bloqueará la producción renal de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  y causará hipocalcemia clínica (HC) (Barton, 1978 citado por Goff, 2008; Kichura y col., 1982).

Aunque las concentraciones de P no están tan estrechamente reguladas como el Ca, ambas se relacionan con las concentraciones plasmáticas de fosfato reguladas directamente por la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , e indirectamente por la retroalimentación negativa de la relación PTH/Ca (Goff, 1999). La hiperfosfatemia puede inhibir la actividad de la 25-hidroxivitamina D 1 alfa-hidroxilasa renal, a pesar del aumento de la síntesis de la PTH, reduciendo la producción de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  lo suficiente como para causar hipocalcemia (Barton y col., 1987).

Se consideran valores normales de fosfatemia entre 1,1 y 2,3 mMol/L (Wittwer, 2012). Estudios realizados en tambos de Uruguay diagnosticaron los perfiles metabólicos en vacas preparto y demostraron que los promedios de los niveles de P se encontraban sobre el intervalo superior (Noro y Ruprecht, 2016).

El signo predominante de la HC es una parálisis de tipo flácida, debido a que el Ca interviene en la contracción de las fibras musculares y en la transmisión de los impulsos nerviosos (Goff, 2008). Otros signos también incluyen inapetencia, dificultad para defecar y orinar, adopción de decúbito lateral, estado comatoso y muerte (Horst y col., 1997).

El diagnóstico de HC está basado en la aparición de los signos clínicos en vacas recién paridas. Se confirma por la respuesta favorable al tratamiento con inyecciones parenterales de soluciones de Ca, y por los niveles de calcemia (Blood y col., 1992).



Comúnmente se asume que las vacas lecheras experimentan HSC cuando el Ca total en suero es  $<2,0$  mMol/L e HC cuando los niveles séricos de Ca son  $<1,5$  mMol/L. El Ca en sangre en la vaca adulta tiene que mantenerse entre 2,1 y 2,5 mMol/L. Normalmente el punto más bajo de calcemia se produce entre las 12 y 24 horas después del parto (Goff, 2008).

El tratamiento de la HC debe realizarse lo antes posible, especialmente si hay decúbito. La presión ejercida por el peso de la vaca en decúbito causa isquemia de los músculos y nervios y es seguida por la necrosis de estos tejidos que resulta en el síndrome de vaca caída. La forma más rápida de restablecer la concentración normal de Ca en plasma es administrar una inyección IV de sales de Ca (borogluconato de Ca) (Goff, 2008).

En general, las preparaciones comerciales para uso IV suministran de 8,5-11,5 g Ca cada 500 mL. También pueden contener fuentes de Mg, P y glucosa. La dosis más efectiva de Ca IV es de aproximadamente 2 g de Ca cada 100 kg de peso corporal. Se debe administrar lentamente ya que, si se administra demasiado rápido, se produce una arritmia cardíaca que puede llevar a la muerte. Los tratamientos con Ca IV elevan la calcemia por encima de lo normal durante aproximadamente 4 horas (Goff, 2008).

Las sales de calcio también se pueden inyectar por vía subcutánea, pero la absorción es variable ya que el flujo de sangre a la periferia a menudo se compromete. La cantidad de Ca que se puede inyectar en un único sitio debe limitarse a 50-75 mL de la mayoría de las preparaciones comerciales. Los preparados de Ca diseñados para la administración intramuscular también están disponibles pero esta vía es poco utilizada ya que se necesita administrar en múltiples sitios de inyección. Los tratamientos de Ca oral no se recomiendan como tratamientos para los casos clínicos de hipocalcemia por su alto riesgo a producir aspiración del producto, aunque pueden ser eficaces para prevenirla (Goff, 2008).

Existen numerosas formas de prevenir la enfermedad, pero solamente algunas son utilizadas en los predios comerciales (Thilsing y col., 2002). Dentro de ellas se pueden señalar algunas como: (1) restricción de la ingesta de Ca en las últimas semanas de gestación o disminución relativa por incremento del P (Contreras, 2002; Thilsing y col., 2002); (2) suplementar con sales aniónicas durante las últimas semanas de la preñez (Dishington, 1975; Contreras, 2002; Thilsing y col., 2002; Goff, 2008); (3) suplementar con Ca por vía oral alrededor del parto (Queen y col., 1993; Bostedt y Bless 1993; Jonsson y Pehrson, 1970; Dhiman y Sasidharan, 1999; Goff, 2008) y (4) administrar vitamina D o metabolitos análogos 2 a 5 días antes del parto, este tratamiento aumenta efectivamente la absorción de Ca en el intestino pero este efecto no se produce si el parto ocurre antes o recién después de alcanzar el nivel tisular adecuado. No siempre es posible predecir el momento exacto del parto y se debe desaconsejar la repetición del tratamiento ya que implica el peligro de que el animal se enferme de calcinosis por hipervitaminosis D<sub>3</sub> (Goff y col., 1989; Bostedt y Bless, 1993; Goff, 2008).

El uso de las dietas aniónicas preparto no han logrado corregir los problemas de la HSC. Por estos motivos, en los últimos años se encuentran disponibles productos comerciales que buscan la suplementación oral de Ca inmediatamente luego del parto para corregir los bajos niveles de calcemia. Esta se fundamenta en que la capacidad de la vaca para utilizar el transporte

activo de Ca a través de las células intestinales es inadecuada para ayudarla a mantener la calcemia. Dosificando al animal con grandes cantidades de Ca muy soluble por vía oral es posible forzar el Ca a través del tracto intestinal por medio de la difusión pasiva entre las células epiteliales intestinales. Los mejores resultados se obtienen con dosis de Ca entre 50 y 125 g por dosis (Goff, 2008).

El uso de una pasta comercial de Cloruro de Calcio ( $\text{ClCa}_2$ ) (54 g de Ca) que se suministra antes del parto, 12 y 24 horas después del mismo (Goff y Horst, 1994; Hernández y col., 1999), reducen significativamente la incidencia de HC y de desplazamiento de abomaso (Oetzel, 1993). Los geles de Ca ofrecen un producto muy soluble, concentrado y fuentes de Ca que se absorben rápidamente (Horst y col., 1997). Sin embargo, las soluciones y geles de  $\text{ClCa}_2$  poseen algunas desventajas tales como que pueden ser cáusticas y causar ulceración en la boca, esófago y mucosa digestiva (Oetzel, 1993; Goff y Horst, 1994; Thilsing y col., 2002; Goff y col., 2004). El  $\text{ClCa}_2$  produce reducción del pH sanguíneo, este cambio puede ser beneficioso en el periodo del periparto porque hay un efecto mayor de adición de aniones en la dieta preparto y en consecuencia se previene la hipocalcemia, reduciendo la alcalinidad de la sangre, aumentando la sensibilidad de los tejidos a la PTH (Horst y col., 1997). Sin embargo, excesivas dosis orales de  $\text{ClCa}_2$  pueden inducir una acidosis metabólica y causar inapetencia en un momento en que la ingesta de alimento ya está comprometida (Goff y Horst, 1993; Goff y Horst, 1994).

Una alternativa a las sales de Ca es el propionato de calcio, que es suministrado en un preparado de pasta espesa y puede aumentar la calcemia. Los efectos de aumento de la calcemia no son tan rápidos como con el  $\text{ClCa}_2$  aunque la actividad del propionato de Ca es más sostenida, no tiene un efecto acidificante del pH sanguíneo (Goff y Horst, 1994) y puede servir como precursor glucogénico en el momento que el animal tiene un BEN (Alonso y González, 1997; Corbellini, 2000; Goff y col., 2004). Salgado y col. (2009) afirman que la administración oral de 700 g de propionato de Ca 1 a 2 horas postparto no aumenta la concentración sérica de Ca, pero reduce la frecuencia de cetosis subclínica y puede aumentar la producción de leche.

Existen productos comerciales que además de propionato de Ca contienen propilenglicol que actúa también como precursor de la gluconeogénesis, y es una fuente rápida de glucosa y energía útil en casos de cetosis (Christensen y col., 1997).

Varios experimentos han evaluado el efecto de la administración oral de Ca sobre la lactancia y el rendimiento reproductivo siendo los resultados inconsistentes (Martínez y col., 2016). En el experimento de Martínez y col. (2016) la suplementación de Ca oral tuvo efecto positivo en vacas multíparas reduciendo la incidencia y prevalencia de HSC, y aumentando la tasa de preñez. Sin embargo, en vacas primíparas el efecto fue negativo. Oetzel y Miller (2012) encontraron que la administración oral de Ca no tuvo efecto sobre la calcemia.

La hipocalcemia es una enfermedad que está relacionada con la cetosis y el hígado graso y están asociadas con un balance de energía excesivamente negativo durante largos periodos de tiempo (Ingvarsen,

2006). La cetosis es un desbalance multifactorial en el uso de la grasa corporal en la lactación temprana. Se caracteriza bioquímicamente por hipoglicemia e hipercetonemia y clínicamente con emaciación, disminución del apetito, descenso del EC y de la producción láctea, algunas vacas tienen cortos periodos de anomalías neurológicas y conductuales (Radostits y col., 2002). Este trastorno ocurre de forma clínica y subclínica (Ingvarsten, 2006). En relación a esto último se cree que al menos el 50% de todas las vacas lecheras pasan por un período temporal de cetosis subclínica en el primer mes de lactancia (Esposito y col, 2014). La cetosis subclínica además, se asoció con probabilidades significativamente más altas de metritis y mastitis (Berge y Vertenten, 2014).

El hígado graso (también llamado "síndrome de la vaca gorda") es un trastorno metabólico caracterizado por un alto contenido de lípidos y triglicéridos (TG) en el hígado. Esta enfermedad ocurre especialmente de forma subclínica, pero en algunas vacas con hígado graso moderado y severo, la enfermedad también ocurre clínicamente (Ingvarsten, 2006).

En el hígado, los AGNE pueden ser completamente oxidados mediante el ciclo de Krebs para proporcionar energía, parcialmente oxidados para producir CC que son liberados en la sangre y sirven como combustibles para otros tejidos, pueden sintetizarse TG los cuales se exportan a través de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) o son almacenados en el hígado (Ingvarsten, 2006; Ingvarsten y Moyes, 2011).

Una proporción de los ácidos grasos absorbidos por el hígado se oxida en las mitocondrias o en los peroxisomas, que son organelos celulares presentes en la mayoría de las células. La oxidación en los peroxisomas es incompleta, en la última etapa de la oxidación peroxisomal la 3-cetoacil-CoA se transforma en acetil-CoA y se regenera una molécula de acil-coenzima A, estos metabolitos deben metabolizarse en las mitocondrias. Los peroxisomas solo oxidan los sustratos parcialmente y captan menos energía en los cofactores, emitiendo más energía en forma de calor en comparación con las mitocondrias. La oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria tiene lugar completamente (dióxido de carbono más equivalentes de energía) o incompletamente a CC. Antes de que estas reacciones puedan tener lugar, los ácidos grasos deben ser transportados a través de la membrana mitocondrial. Esto requiere que los ácidos grasos libres en el citoplasma se activen a acil-CoA que pueden transportarse sobre la membrana externa, tras lo cual la carnitina palmitoil transferasa I transforma acil-CoA en acilcarnitina que puede transportarse sobre la membrana mitocondrial. En el interior de la mitocondria mediante otra enzima similar, la acilcarnitina se transforma nuevamente en acil-CoA que se oxida a acetil-CoA en la  $\beta$ -oxidación. La acetil-CoA se oxida completamente en el ciclo de Krebs o de forma incompleta a acetoacetylCoA en la cetogénesis. La función principal de la cetogénesis es transformar el exceso de carbono de los ácidos grasos en el hígado en una forma fácilmente oxidable para los tejidos extrahepáticos, que pueden usarse en lugar de la glucosa (Ingvarsten, 2006).

Los ácidos grasos que no se oxidan por completo o de forma incompleta a CC, se esterifican a TG. Una parte del TG producido se exporta fuera de las células en forma de lipoproteínas, de las cuales las VLDL constituyen la parte más grande. Junto con la oxidación de los ácidos grasos,

la síntesis de lipoproteínas desempeña un papel central en el desarrollo del hígado graso. El hígado tiene una capacidad muy limitada para exportar TG a través de VLDL, por lo que la afluencia rápida y extensa de AGNE circulante en el hígado puede producir una acumulación de TG perjudicando la función de los hepatocitos (Goff y Horst, 1997). El TG, que no se exporta como VLDL, se almacena en el citoplasma como gotas de grasa, si se almacena en exceso produce el hígado graso (Ingvartsen, 2006). Esta infiltración grasa del hígado es particularmente significativa para las vacas lecheras, ya que aproximadamente el 85% de la glucosa para el metabolismo se deriva del hígado (Mulligan y Doherty, 2008). Según Bobe y col. (2004) casi el 50% de todas las vacas experimentan una acumulación de TG en el hígado en el PT. En la Figura 5 se muestra un esquema representando lo dicho anteriormente.

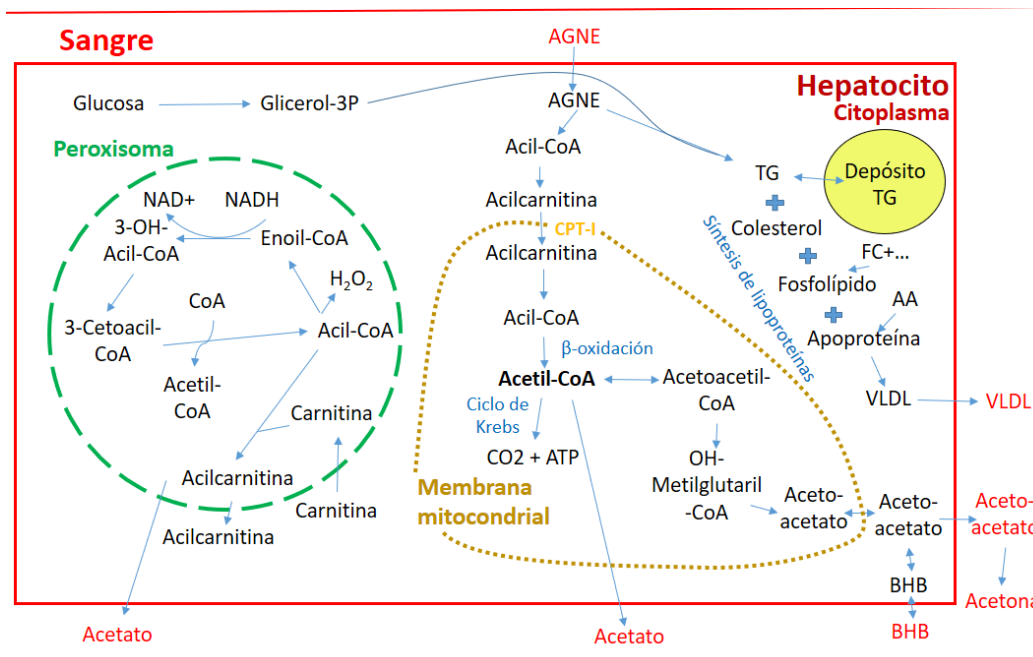


Figura 5. Procesos intermedios en el hígado de importancia en el desarrollo de cetosis e hígado graso. AA: aminoácidos, CPT-I: carnitin palmitoil transferasa I, FC+...: fosfatidilcolina y otros componentes que producen fosfolípidos, TG: triglicérido (Adaptado de Ingvartsen, 2006).

Las enfermedades de producción como retención de placenta, metritis, hipocalcemia, mastitis y desplazamiento de abomaso aumentan el BEN en la vaca y el riesgo de hígado graso y cetosis (Ingvartsen, 2006). Un factor que limita la cantidad de energía que la vaca puede derivar de la dieta es la capacidad del rumen durante la lactación temprana para producir y absorber ácidos grasos volátiles (Goff y Horst, 1997). Apoyando esto, Drackley (1999) en un experimento restringió la comida en un 25 a 50% a vacas lecheras sanas a partir del día 4 postparto manteniendo esta restricción por una semana; 8 de 10 vacas restringidas manifestaron cetosis clínica, mientras que las 2 vacas restantes manifestaron cetosis subclínica; las vacas que comieron *ad libitum* pertenecientes al grupo control no tuvieron CC elevados. Anteriormente este mismo autor restringió el consumo en un 25% a partir de los 14 días postparto sin tener diferencias entre el grupo restringido y el grupo control (Drackley y col., 1991). Más recientemente Goldhawk y col. (2009) concluyeron en su experimento que, durante la semana anterior al parto y las

2 semanas posteriores a este, los animales con cetosis subclínica tuvieron un menor CMS.

Según el estudio de Vanholder y col. (2015) las vacas con EC mayor a 3,25 antes del parto tuvieron mayor probabilidad de desarrollar cetosis que las de menor EC. En este mismo estudio se vio un mayor riesgo de cetosis clínica en las vacas con 3 o más partos, mientras que para la cetosis subclínica el riesgo aumento para 2 o más partos. En otro estudio en vacas multíparas, el aumento de las probabilidades de cetosis subclínica se asoció con mayor producción de leche en la lactancia anterior y mayor pérdida de EC durante el PT (Kaufman y col., 2016).

El diagnóstico de cetosis clínica se realiza por los signos clínicos y por la presencia de CC en sangre, leche y orina (Goff y Horst, 1997). La cetosis subclínica solo se determina por los valores de CC en el animal, principalmente de BHB en suero mayor a 1,2 mMol/L (Compton y col., 2014; Daros y col., 2017). En un estudio de Duffield y col. (2009) donde querían establecer el umbral de BHB en sangre con impacto en los animales, encontraron que las concentraciones séricas de BHB a 1,2 mMol/L o más en la primera semana después del parto se asociaron con un mayor riesgo de desplazamiento de abomaso y metritis. También encontraron que las vacas con mayor concentración de BHB en suero tuvieron menor rendimiento de leche con mayor porcentaje de grasa y menor porcentaje de proteína.

Las concentraciones de AGNE en la sangre son un indicador del BEN y también ayudan a determinar si la cetosis postparto es causada por el mismo (Oetzel, 2004). Múltiples estudios han informado que las concentraciones séricas de AGNE durante el preparto deben estar entre 0,3 y 0,5 mMol/L y durante el postparto entre 0,70 y 1,0 mMol/L (LeBlanc y col., 2005; Ospina y col., 2010; Chapinal y col., 2011; Roberts y col., 2012).

En cuanto al hígado graso es difícil de diagnosticar ya que el contenido de lípidos del hígado solo se puede determinar tomando biopsias hepáticas (Gerloff y col., 1986) por lo que el conocimiento de la extensión de esta enfermedad en la práctica es muy limitado (Ingvarsen, 2006).

Para prevenir la cetosis y el síndrome de hígado graso hay que evitar la pérdida excesiva de peso en el periparto. Se recomiendan las prácticas de manejo que pretenden optimizar el CMS y aumentar la densidad energética de las dietas sin sacrificar la función del rumen (Esposito y col, 2014).

Se han desarrollado medidas de prevención basadas en el aumento de la glucemia, con hormonas y precursores de la glucosa. La inyección subcutánea (15mg/día durante 14 días) de glucagón (Nafikov y col., 2006) ha demostrado ser eficaz en la prevención de hígado graso. También se ha demostrado que la administración oral de 1L/día de propilenglicol durante los 10 días previos al parto, previenen el hígado graso y la cetosis al aumentar las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina y al disminuir las concentraciones plasmáticas de BHB y AGNE (Studer y col., 1993).

## **10.HIPOTESIS**

Las dietas aniónicas preparto y la suplementación oral de calcio inmediatamente luego del parto, previenen la hipocalcemia clínica y subclínica, así como las enfermedades asociadas al periparto.

## **11. OBJETIVOS**

### **11.1. Generales**

El objetivo del trabajo es estudiar la adaptación a dietas aniónicas preparto, así como evaluar el efecto de la suplementación oral de calcio al parto sobre la hipocalcemia clínica y subclínica y demás enfermedades del periparto en vacas lecheras multíparas.

### **11.2. Específicos**

- Evaluar la adaptación metabólica a las dietas aniónicas preparto evaluando el pH de la orina.
- Registrar la ocurrencia de casos clínicos de las enfermedades del periparto.
- Determinar la concentración de calcio, fósforo y magnesio durante el periodo de transición en suero sanguíneo.
- Evaluar el balance energético a través del estado corporal y de la concentración de AGNE y BHB pre y postparto en suero sanguíneo.
- Basados en la concentración de Ca y BHB, determinar la ocurrencia de hipocalcemia y cetosis subclínica respectivamente.

## **12. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **12.1. Localización y período experimental**

El trabajo de campo se realizó en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (EEMAC), de la Facultad de Agronomía en el Departamento de Paysandú, Ruta 3 Km. 363, en el periodo comprendido entre febrero y julio del año 2018.

El protocolo experimental fue aceptado por la Comisión de Experimentación y Uso de Animales de la Facultad de Veterinaria (CEUAFVET-723).

### **12.2. Diseño experimental**

Se utilizaron 38 vacas multíparas raza Holando, biotipo Americano, del rodeo a parir en otoño (marzo a junio 2018). Las vacas utilizadas tuvieron una producción de leche en lactancia anterior (305 días) promedio de  $7904 \pm 2624$  litros (Media  $\pm$  desvío estándar). El número de lactancia promedio de las vacas a utilizar, tomando como referencia el parto que se estudió, fue de  $3,1 \pm 1,0$  (Media  $\pm$  desvío estándar).

Basados en la fecha probable de parto, EC [escala de 1 al 5; Edmonson y col., 1989; Ferguson y col. (1994)], el peso vivo un mes antes del parto, y el recuento de células somáticas en los controles previos al secado (sana:  $\leq 200000$  células somáticas, enferma:  $> 200000$  células somáticas), se realizaron bloques de animales que fueron distribuidos al azar en dos tratamientos instaurados luego del parto. Durante el parto, todas las vacas tuvieron el mismo manejo y la misma alimentación.

### **12.3. Tratamientos**

- Grupo suplementado (GS): se le administraron 420 gramos de propionato de calcio + 400 gramos de propilenglicol (producto comercial LEVAC®, Biotay), vía oral, al parto, n=19.
- Grupo no suplementado (GNS): sin suplementación de propionato de calcio ni de propilenglicol oral al parto, n=19.

Cada grupo fue identificado con collares. Las vacas del grupo GS se identificaron con collares rojos y las del grupo GNS con collares verdes.

El producto utilizado en el grupo GS, tiene una presentación comercial en frasco de 1 L que aporta 90 g de Ca y se administró en única dosis, inmediatamente luego del parto, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.



#### 12.4. Alimentación preparto

Durante el preparto, en ambos tratamientos, se suministró ración totalmente mezclada (TMR) cuya composición se muestra en la Tabla 1. Además, se les suministró heno de Moha (*Setaria italica*) disponible en rollos y agua *ad libitum*. La dieta fue formulada tomando como base la información disponible sobre los componentes de los ingredientes. Posteriormente se analizó la mezcla en el laboratorio, de acuerdo a los procedimientos que se comentarán en las siguientes secciones de este trabajo.

Tabla 1. Composición de la dieta preparto (TMR)

Ingredientes	Kg en base fresca/vaca/día
Ensilaje maíz planta entera	26
Ración aniónica	4,8
Sal preparto aniónica	0,15
Carbonato calcio	0,15
Grano de soja	1,7
Heno Moha en la mezcla	2,5

#### 12.5. Manejo de los animales

Todas las vacas ingresaron al preparto entre los días -21 a -27 respecto a la fecha probable de parto. Los días martes se realizó el ingreso de las vacas que cumplían con los días preparto correspondientes. Desde ese día, al día jueves (martes y miércoles), las vacas ingresadas consumieron el 50% de la dieta total de preparto, para lograr una mínima adaptación a la misma. El jueves estas vacas se incorporaron al lote general del preparto.

El día del ingreso de las vacas al preparto, en la mañana, se registró el peso vivo, EC, y se realizó la extracción de sangre de la vena coccígea en tubos tipo vacutainer, sin anticoagulante. Ese mismo día además se extrajo orina mediante masaje perineal.

Los días lunes y jueves entre 8:00 y 9:00 am, durante el preparto, se repitió el mismo procedimiento, extrayendo muestras de sangre y orina. Además, los días lunes se determinó el EC de las vacas utilizando la escala descrita anteriormente.

Se realizó la vigilancia de los partos diariamente, en turnos de 2 horas, para evaluar los signos prodrómicos del parto. Se registraron las fechas y horarios de las pariciones, tipo de parto (eutócico o distócico) y tipo de ayuda.

A las vacas del tratamiento GS y GNS, dentro de las primeras 6 horas luego del parto, se les extrajo una muestra de sangre siguiendo la metodología ya descrita. Posteriormente las vacas del grupo GS fueron suplementadas, vía oral, con el producto comercial.

Todas las vacas (GS y GNS) luego del parto, integraron un único lote de vacas en ordeño, recibiendo la misma alimentación postparto. A las vacas de ambos grupos, se les extrajo sangre a las 24 y 48 horas, 15 y 30 días luego del parto. En esos momentos también se determinó el EC.

Entre los 5 y 10 DPP se evaluó la secreción vaginal, utilizando vaginoscopio y se midió la temperatura rectal a todas las vacas del ensayo.

Se registraron los casos de hipocalcemia clínica, retención de placenta, metritis y mastitis clínica en los primeros 30 DPP.

## **12.6. Determinaciones**

### **12.6.1. Criterios clínicos para la determinación de enfermedades**

Se consideró que las vacas tenían hipocalcemia clínica si estaban en decúbito permanente hasta las 72 horas luego del parto y que exhibían anorexia, síntomas nerviosos, temblores, distintos grados de conciencia y buena respuesta a la administración de Ca intravenoso (Duffield y col., 1999). Cuando existió falla en la expulsión de la placenta más allá de las 24 horas luego del parto se determinó que presentaban retención de la misma (LeBlanc, 2008); y que presentaban metritis si al hacer la vaginoscopía se observaba una descarga vaginal de olor fétido con temperatura rectal mayor a 39,5°C (Galvão y col., 2009). Se consideró mastitis clínica cuando en la prueba de eliminación de los primeros chorros, la leche presentaba características anormales como presencia de coágulos, leche acuosa u otras alteraciones del color (Duffield y col., 1999).

### **12.6.2. Determinaciones en orina**

En la orina se determinó el pH con tiras reactivas (®HYDRION) y peachímetro (®HANNA instruments, modelo HI98128) en el momento de cada extracción. Este último fue calibrado previo a cada día de determinación.

### **12.6.3. Determinaciones en suero**

Posterior a la extracción de sangre esta se centrifugó a 3000 revoluciones/minuto durante 10 minutos, obteniendo el suero el cual se colocó por triplicado en tubos tipo eppendorf que se identificaron con el número de cada vaca y la fecha de extracción. Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis.

En el suero sanguíneo se determinó la concentración de Calcio, Fósforo y Magnesio entre los 7 días previos al parto, al parto, a las 24, 48 horas luego del parto y los días 15 y 30 postparto.

Se consideró que los animales presentaban hipocalcemia subclínica cuando el Ca en suero se encontraba por debajo de 2 mMol/L (Goff, 2008).

Se asumieron como valores normales de fosfatemia entre 1,1 y 2,3 mMol/L (Wittwer, 2012), y de magnesemia entre 0,75 y 1,0 mMol/L (Goff, 2008).

Además, se determinó la concentración de AGNE y BHB 15 días previos al parto, al parto, a los 15 y 30 días postparto.

Se consideró cetosis subclínica cuando los valores de BHB en suero eran superiores a 1,2 mMol/L (Compton y col., 2014).

Las concentraciones de AGNE que se establecieron como normales antes del parto fueron entre 0,3 y 0,5 mMol/L, y en el postparto entre 0,7 y 1,0 mMol/L (LeBlanc y col., 2005; Ospina y col., 2010; Chapinal y col., 2011; Roberts y col., 2012).

En la Tabla 2 se muestran los reactivos y métodos utilizados para determinar los metabolitos en suero. El equipo utilizado para estas determinaciones fue un espectrofotómetro automático (Vitalab Selectra 2).

Tabla 2. Reactivos y métodos utilizados para determinar los metabolitos en suero.

<b>Metabolito</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Método analítico</b>	<b>Laboratorio</b>
<b>Ca</b>	Ca-Color Arsenazo III AA	colorimétrico directo	Wiener lab.
<b>P inorgánico</b>	Fosfatemia UV AA	UV	Wiener lab.
<b>Mg</b>	Mg-Color AA	colorimétrico directo	Wiener lab.
<b>BHB</b>	D-3- Hydroxybutyrate	3-HBDH- NAD+3- hidroxibutirato deshidrogenasa- NAD+	Randox
<b>AGNE</b>	HR series	ACS-ACOD (acil-CoA sintetasa y acil- CoA oxidasa)	Wako pure chemical industries ltd.

Ca: calcio, P inorgánico: fósforo inorgánico, Mg: magnesio, BHB:  $\beta$ -hidroxibutirato, AGNE: ácidos grasos no esterificados.

Como controles se utilizó el Standatrol (nivel 1 y nivel 2) del laboratorio Wiener Lab para el Ca, P y Mg. Para BHB y AGNE se utilizó el control ASSAYED HUMAN SERA LEVEL 2 (HUM ASY CONTROL 2) del laboratorio Randox.

Las determinaciones de estos metabolitos se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, sede Paysandú. Para todas estas, el coeficiente de variación intraensayo e interensayo fue menor al 10%.

#### 12.6.4. Determinaciones en TMR preparto

Una vez por semana se realizó la evaluación visual del alimento en el comedero, extracción de muestras (1Kg) del mismo, estas fueron almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. Para este se enviaron dos muestras al Laboratorio Analítico Agro Industrial (LAAI) de Paysandú donde se determinó la composición química y concentración de los iones sodio, potasio, azufre y cloro (Tabla 3).

Tabla 3. Composición química de TMR (resultados expresados en base seca).

Parámetro	Unidad	TMR 2/4/18	TMR 23/4/18	Metodología analítica
Materia seca	%	27,5	25,8	AOAC 930.15:2012
Proteína	%	11,9	12,5	AOAC 988.05:2012
Fibra detergente ácida	%	16	16	ANKOM Technology Metod (A200/A220)
Fibra detergente neutra	%	40	37	ANKOM Technology Metod (A200/A220)
Aceites y grasas	%	2,5	2,7	AOAC 920.39:2012, Fat crude o Ether Extract
Calcio	% Ca	1	0,9	AOAC 927.02:2012
Fosforo	% P total	0,4	0,4	AOAC 965.17:2012
Cenizas	%	8,3	8,6	AOAC 942.05:2012
Azufre	%	0,2	0,5	
Cloruro	%	1,7	1	Método Mohr
Sodio	%	0,1	0,1	Fotometría llama
Potasio	%	1,1	0,8	Fotómetro de llama
DCAD	mEq/Kg	-55,35	-34,96	

Para la determinación de DCAD se empleó la ecuación presentada por Horst y col. (1997) donde:

$$\text{DCAD (mEq/Kg MS)} = [(\% \text{Na}/0.23) + (\% \text{K}/0.39)] - [(\% \text{Cl}/0.35) + (\% \text{S}/0.16)]$$

### 12.7. Análisis estadístico

Las variables que consisten en observaciones repetidas en el tiempo (pH, EC, AGNE, BHB, Calcio, Fosforo y Magnesio) fueron analizadas por el procedimiento mixto del SAS. El modelo estadístico incluyó como efectos fijos los tratamientos, las observaciones (días pre y postparto), la presencia de hipocalcemia subclínica y las interacciones entre ellos.

Para realizar los análisis estadísticos de las variables evaluadas, se excluyeron las vacas con hipocalcemia clínica (n=8), ya que las mismas fueron tratadas con gluconato de calcio, por lo que se utilizaron para el estudio 30 vacas.

También se clasificaron las vacas en dos grupos de acuerdo a los valores de pH de la orina, en la última semana antes del parto: 1) pH < 7,0 y 2) pH ≥ 7,0. Este efecto fue evaluado para estudiar la asociación con la concentración de Ca, P y Mg.

Para los análisis de orina los valores de pH se agruparon por semana, basados en los días en el preparto. La semana 1 corresponde desde el día 0 al 7; la semana 2 del día 8 al 14; la semana 3 del día 15 al 21; y la semana 4 del día 22 al 28.

Las diferencias estadísticas se consideraron significativas si  $p \leq 0,05$  y se consideró tendencia si se encontraba entre 0,05 y 0,10.

## 13. RESULTADOS

### 13.1. Periodo preparto y parición

Las vacas estuvieron en promedio 20 días en el preparto. La distribución de las vacas en relación a los días en el preparto se observa en la Figura 6.

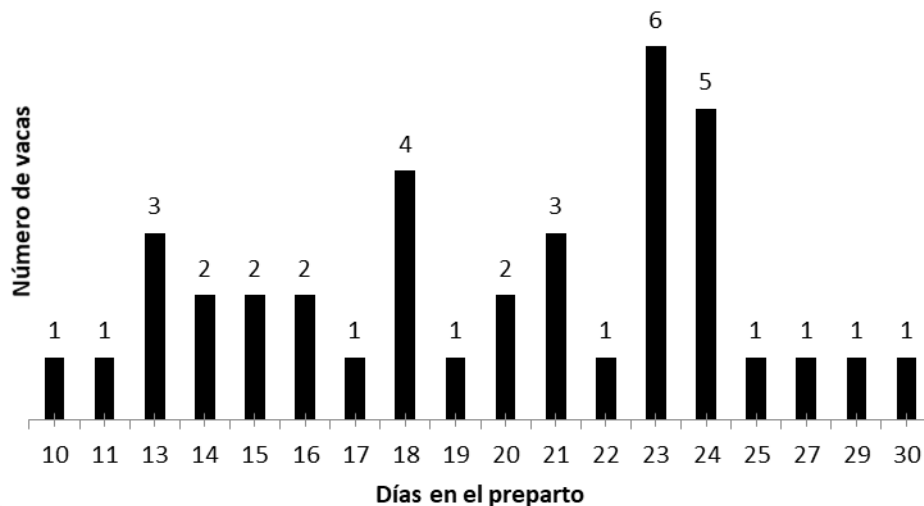


Figura 6. Distribución de las vacas de acuerdo a los días en el preparto.

Con respecto a las pariciones, el porcentaje de vacas con parto eutócico fue de un 84% (n=32), y un 16% correspondieron a partos distócicos (n=6).

Respecto al pH de la orina en el preparto, se encontraron diferencias significativas entre las semanas en el preparto ( $p < 0,0001$ ). Como se observa en la Figura 7, el pH de la orina fue disminuyendo en el transcurso de los días, a medida que las vacas se iban acercando al parto. La media de la primera semana fue de  $8,13 \pm 0,12$ ; de la segunda semana fue de  $7,86 \pm 0,13$ ; la de la tercera semana fue de  $7,54 \pm 0,15$ ; y la de la cuarta semana fue de  $7,44 \pm 0,2$ .

En la semana 1 la media de pH fue diferente en relación a las demás, la media de la semana 2 fue diferente a la de la 1 y 3, e igual en relación a la 4. La semana 3 fue diferente en relación a la semana 1 y 2, e igual en relación a la 4. La semana 4 fue diferente a la 1 pero igual a la 2 y 3.

No hubo relación entre el pH de la orina y las vacas que manifestaron hipocalcemia clínica y subclínica ( $p = 0,39$  y  $p = 0,78$  respectivamente).

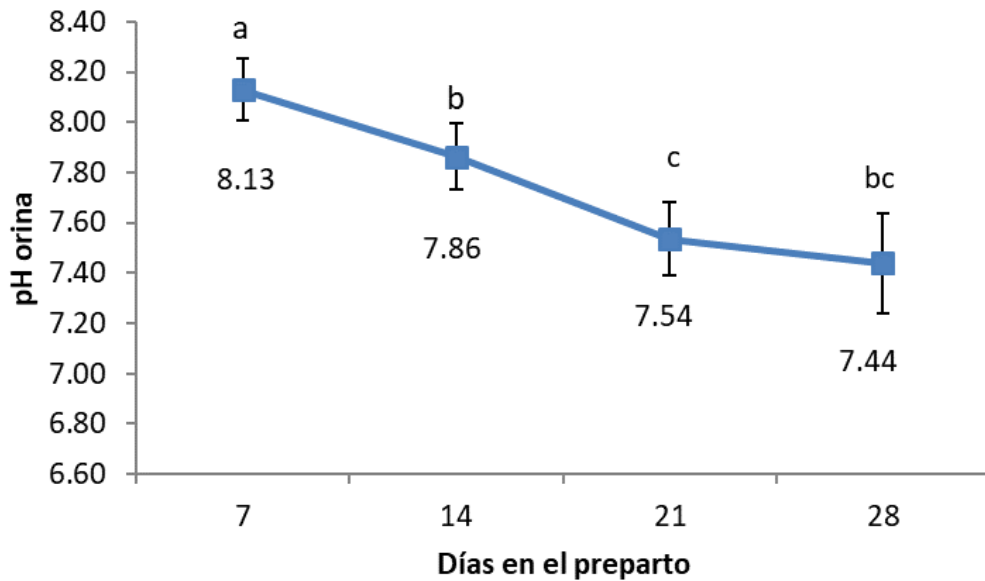


Figura 7. Evolución del pH de la orina en relación a los días en el parto. Letras diferentes en cada día, indican diferencias significativas entre las semanas.

### 13.2. Enfermedades clínicas del periparto

Con respecto a las enfermedades del periparto, el 32% (n=6) de las vacas del grupo GS manifestaron hipocalcemia clínica, mientras que en el grupo GNS el porcentaje fue de un 11% (n=2).

Como consecuencia de la hipocalcemia clínica, a las 12 horas del parto una de las vacas del grupo GNS murió a causa de asfixia por aspiración de contenido ruminal. Por este motivo fue excluida para realizar los análisis estadísticos.

La retención de placenta con posterior metritis fue manifestada en dos vacas, una del grupo GS (5%) y otra del grupo GNS (5%).

Del grupo GS, 4 vacas presentaron mastitis clínica, correspondiendo al 21% de dicho grupo, similar al grupo GNS donde 3 presentaron dicho evento (16%).

Se observó que una vaca del grupo GS presentó 3 eventos patológicos, los cuales fueron: hipocalcemia clínica, retención de placenta y metritis; y una vaca del grupo GNS sufrió los mismos 3 eventos, además de mastitis clínica.

En la Tabla 4 se muestra la incidencia de las enfermedades clínicas observadas durante el primer mes luego del parto.

Tabla 4. Incidencia de patologías clínicas durante los primeros 30 días luego del parto. GS= grupo suplementado con calcio, GNS= grupo no suplementado.

Patología	Incidencia Tratamiento GS	Incidencia Tratamiento GNS
Hipocalcemia clínica	32% (6/19)	11% (2/19)
Retención de placenta + Metritis	5% (1/19)	5% (1/19)
Mastitis clínica	21% (4/19)	16% (3/19)

### 13.3. Concentración de calcio sanguíneo

En relación al pH de orina de las vacas en la última semana previa al parto, no se encontró efecto del mismo ( $p=0,60$ ) sobre la concentración de calcio en suero (antes de implementar los tratamientos), ni al parto ( $pH < 7,0$ ,  $Ca=1,69 \pm 0,10$  vs  $pH \geq 7,0$   $Ca=1,56 \pm 0,05$  mMol/L), ni a los 7 días previos al mismo ( $pH < 7,0$ ,  $Ca=2,02 \pm 0,10$  vs  $pH \geq 7,0$   $Ca=2,06 \pm 0,05$  mMol/L). La concentración de Ca, una vez instaurados los tratamientos, no estuvo afectada por el pH de la orina durante el preparto (Figura 8).

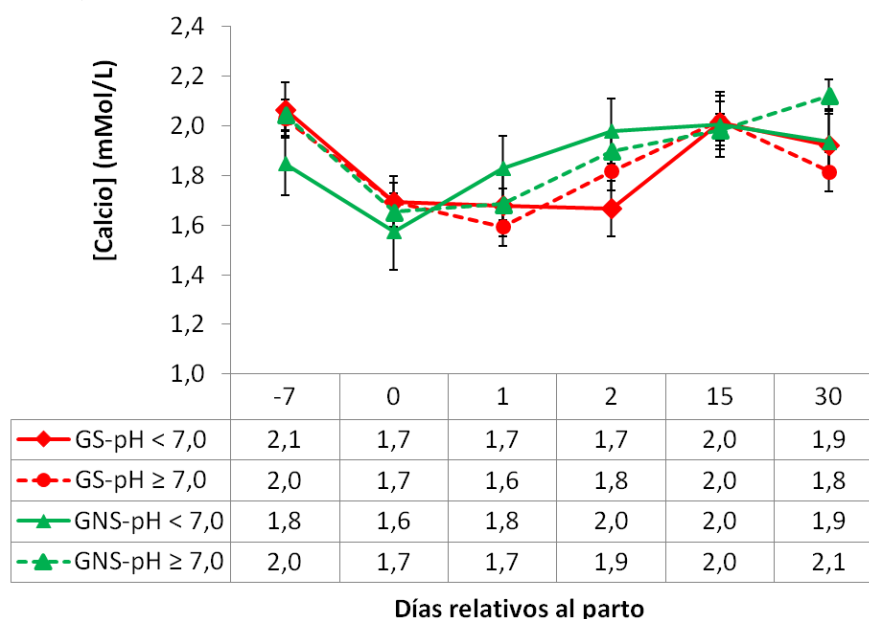


Figura 8. Concentración de calcio sérico en relación a los días al parto y el pH de orina una semana previa al mismo. GS= grupo suplementado con calcio, GNS= grupo no suplementado.

La hipocalcemia subclínica se desarrolló en el 95% ( $n=18$ ) de las vacas del grupo GS y en el 89% ( $n=17$ ) de las del grupo GNS.

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de calcio sanguíneo entre los tratamientos ( $p=0,13$ ). La concentración promedio de calcio de las vacas del grupo GS fue de  $2,02 \pm 0,05$  mMol/L, y la concentración promedio en las vacas del grupo GNS fue de  $1,91 \pm 0,06$  mMol/L.



En relación a los DPP hubo diferencias significativas en el nivel de calcio sanguíneo ( $p < 0,0001$ ). Hubo interacción tratamiento-DPP sobre la concentración de calcio ( $p = 0,003$ ).

Las concentraciones más bajas de calcio en el grupo GS, estuvieron en los días 0 (parto), 1 y 2 en relación al día -7, que fue donde se observó la concentración más alta (Figura 9). Al día 15 y 30 las concentraciones subieron y ya no hubo diferencias en relación al día -7.

La calcemia más baja en el grupo GNS ocurrió en el día 0 y 1, a diferencia del resto de los días (-7, 2, 15 y 30), donde la concentración de calcio en sangre fue mayor.

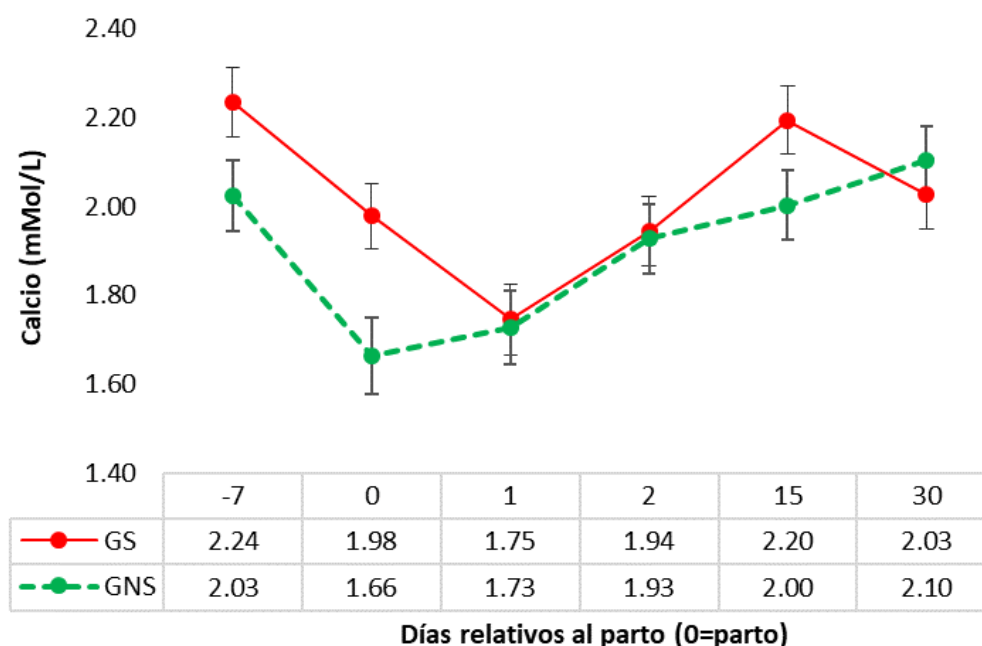


Figura 9. Concentración de calcio sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

En vacas del grupo GS se observaron diferencias significativas en la concentración de calcio, en aquellas que tuvieron hipocalcemia subclínica ( $1,82 \pm 0,04$  mmol/L) y las que no presentaron dicha enfermedad ( $2,22 \pm 0,09$  mmol/L). En cambio, en el grupo GNS no hubo diferencia entre las vacas con hipocalcemia subclínica ( $1,89 \pm 0,03$  mmol/L) y las que no tuvieron ( $1,93 \pm 0,11$  mmol/L).

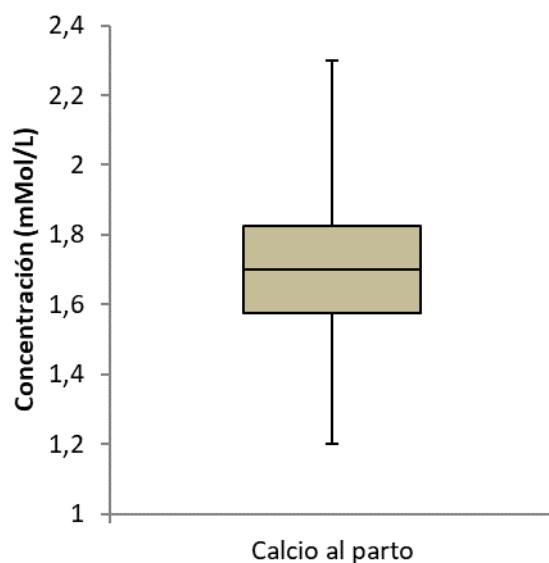


Figura 10. Concentración de calcio el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS). GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior e inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana.

En las figuras 10 y 11 se presenta la distribución de las vacas en relación a la concentración de calcio en suero sanguíneo, el día del parto, a las 24 y 48 horas luego del parto.

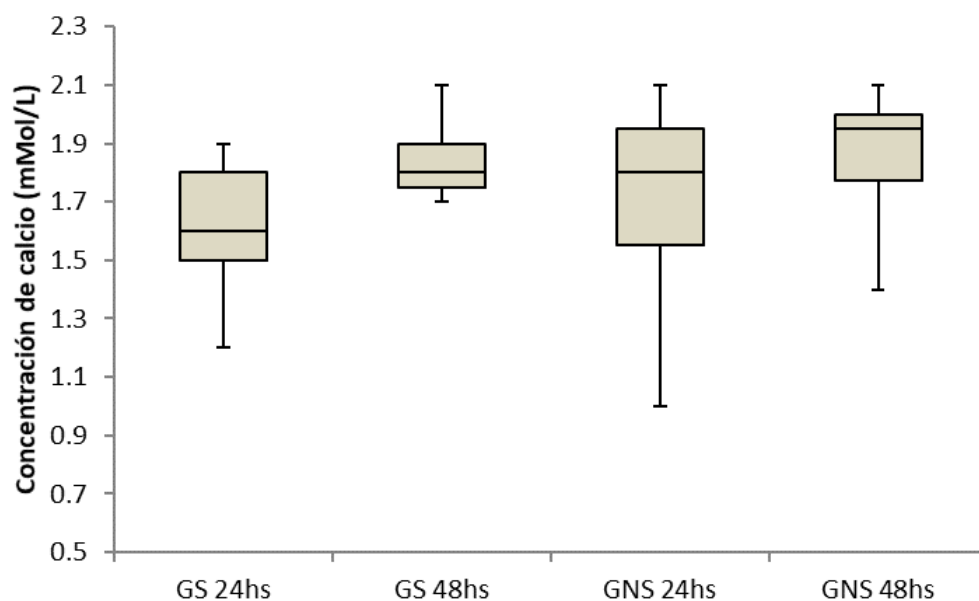


Figura 11. Concentración de calcio respecto a las horas postparto para cada tratamiento. GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior e inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana para cada caso.

### 13.4. Concentración de fósforo sanguíneo

Cuando se evaluó el efecto del pH de orina de las vacas en la última semana previa al parto en relación a la concentración de fósforo sanguíneo promedio en los días -7 y 0 con respecto al parto (antes de implementar los tratamientos), se encontró una tendencia ( $p=0,09$ ) a que las vacas que tuvieron  $\text{pH} < 7,0$  presentaron mayor concentración de fósforo que aquellas que tuvieron  $\text{pH}$  mayor ( $2,11 \pm 0,13$  vs  $1,86 \pm 0,07$  mMol/L, respectivamente).

No hubo efecto de los tratamientos sobre la concentración de fósforo sanguíneo ( $p=0,67$ ). La concentración promedio (desde el día -7 a 30 postparto) de fósforo de las vacas del grupo GS fue de  $2,04 \pm 0,08$  mMol/L y la concentración promedio en las vacas del grupo GNS fue de  $1,99 \pm 0,09$  mMol/L.

En relación a los días postparto hubo efecto significativo sobre el nivel de fósforo sanguíneo ( $p < 0,0001$ ). No hubo interacción entre el tratamiento y DPP ( $p=0,25$ ). La fosfatemia no se vio afectada por la presentación de hipocalcemia subclínica ( $p=0,86$ ). La interacción tratamiento-hipocalcemia subclínica no fue significativa ( $p=0,76$ ).

La concentración más baja de fósforo ocurrió en el día 0, en relación con el día -7 donde la concentración fue más alta (Figura 12). En la figura 13 se presenta la distribución de las vacas en relación a la concentración de fosforo en suero sanguíneo el día 0 (parto).

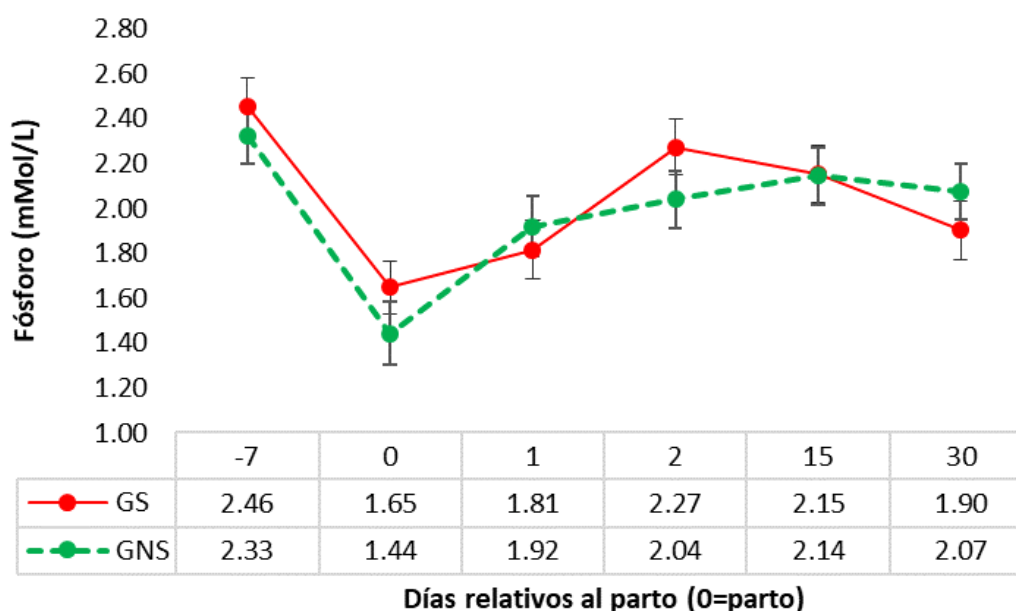


Figura 12. Concentración de fósforo sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

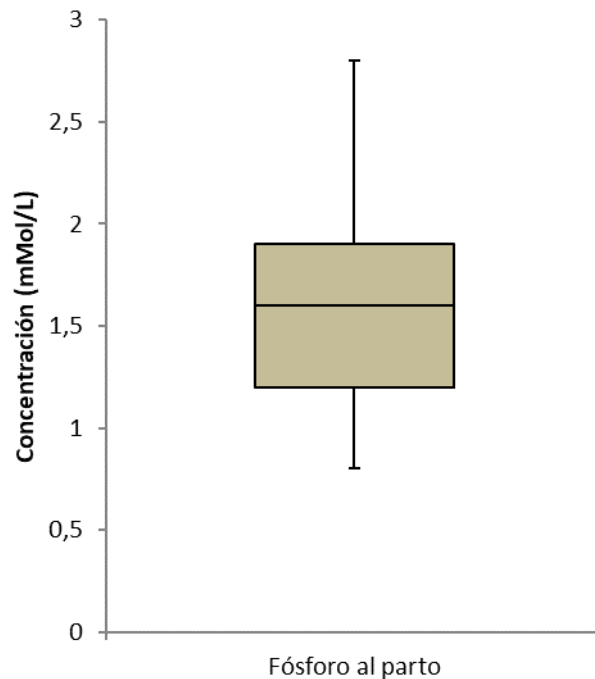


Figura 13. Concentración de fósforo el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS). GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado). Las barras superior e inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, mientras que la línea dentro de la caja indica la mediana.

### 13.5. Concentración de magnesio sanguíneo

El pH de orina preparto no afectó la concentración de Mg sérico cuando se evaluó previo al inicio de los tratamientos (pH<7,0 Mg=0,94±0,02 y pH> 7,0 Mg=0,97±0,01 mMol/L).

No se encontraron diferencias en la concentración de magnesio sanguíneo entre los tratamientos (p=0,13). La concentración promedio de Mg de las vacas del grupo GS fue de 0,99±0,02 mMol/L, mientras que la concentración promedio en las vacas del grupo GNS fue de 0,93±0,03 mMol/L.

Los días postparto afectaron la magnesemia (p<0,0001). Los niveles más bajos se observaron en los días -7, 2, 15 y 30 en relación a los días 0 y 1 (Figura 14). En la interacción tratamiento-DPP no se encontraron diferencias significativas (p=0,54). La concentración de magnesio sanguíneo no se vio afectada por la presentación de hipocalcemia subclínica (p=0,50). La interacción tratamiento-hipocalcemia subclínica no fue significativa (p=0,17).

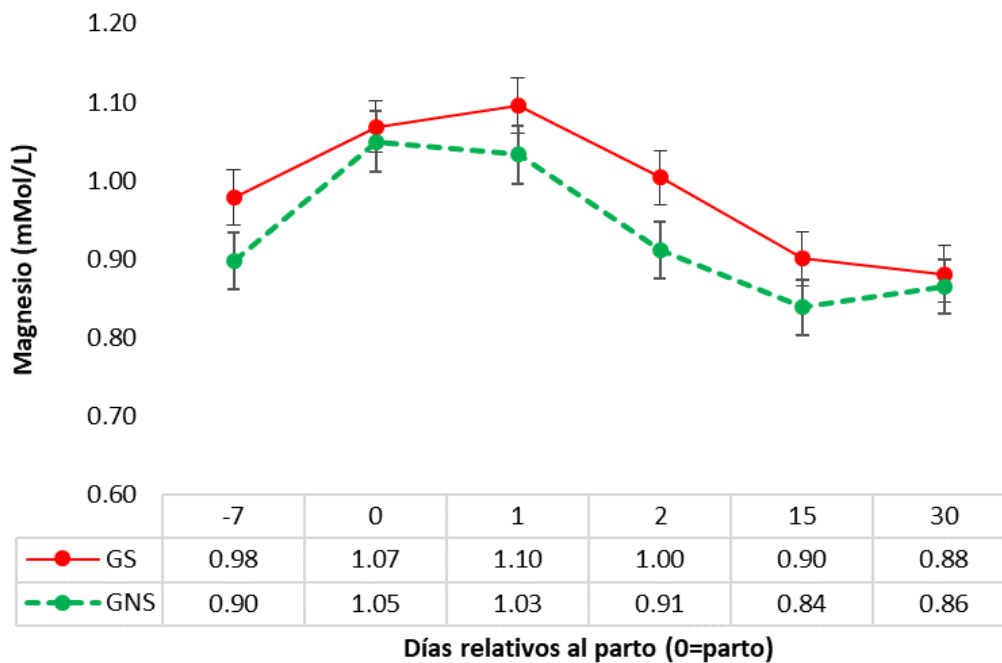


Figura 14. Concentración de magnesio sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

En la Figura 15 se observa la distribución de los valores de magnesio en el día del parto.

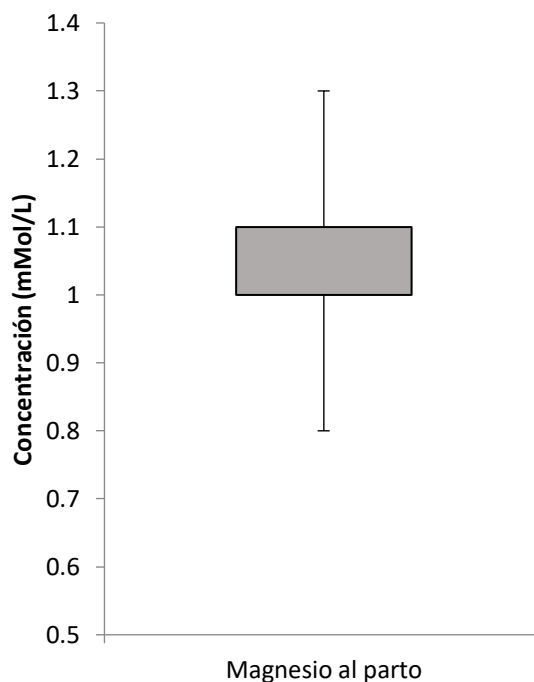


Figura 15. Concentración de magnesio el día del parto considerando todas las vacas (GS y GNS). GS: Grupo suplementado con calcio, GNS: Grupo no suplementado. Las barras superior e inferior indican los valores máximos y mínimos respectivamente, la mediana no se observa en el gráfico porque se concide con el valor máximo de la caja (1,1 mMol/L) .

### 13.6. Relación calcio-fósforo

No se encontraron diferencias en la relación Ca/P entre los tratamientos ( $p=0,64$ ). La relación Ca/P promedio de las vacas del grupo GS fue de  $1,04\pm0,04$  mMol/L y en las vacas del grupo GNS fue de  $1,01\pm0,05$  mMol/L.

Con respecto a los días postparto hubo diferencias significativas en dicha relación ( $p<0,0001$ ). La misma fue más alta en el día 0 en comparación con la de los demás días (Figura 16). No hubo interacción tratamiento-DPP sobre la relación Ca/P ( $p=0,58$ ). Además, la relación Ca/P se vio afectada por la presentación de hipocalcemia subclínica ( $p=0,09$ ).

En la interacción tratamiento-hipocalcemia subclínica no hubo diferencias significativas ( $p=0,08$ ).

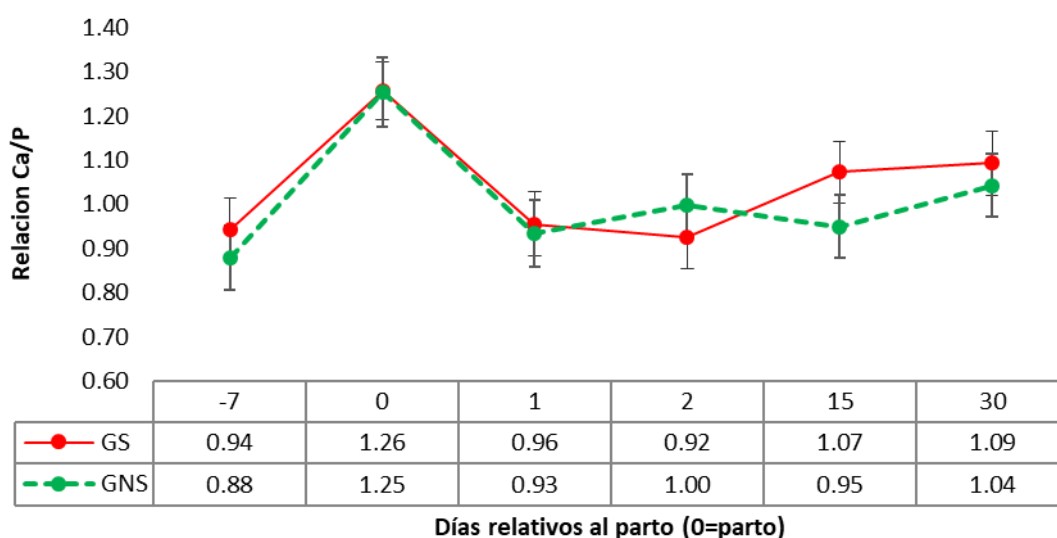


Figura 16. Relación Calcio/fósforo en los días relativos al parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

### 13.7. Estado corporal

No se encontraron diferencias significativas en el EC entre los tratamientos ( $p=0,52$ ). El EC promedio de las vacas del grupo GS fue de  $2,98\pm0,11$ , mientras que en el grupo GNS fue de  $2,89\pm0,08$ . El EC disminuyó en ambos tratamientos luego del parto ( $p<0,0001$ ) (Figura 17).

No hubo interacción entre tratamiento-DPP ( $p=0,24$ ). El EC no se vio afectado por la presentación de hipocalcemia subclínica ( $p=0,16$ ). Tampoco hubo interacción entre tratamiento e hipocalcemia subclínica ( $p=0,35$ ).

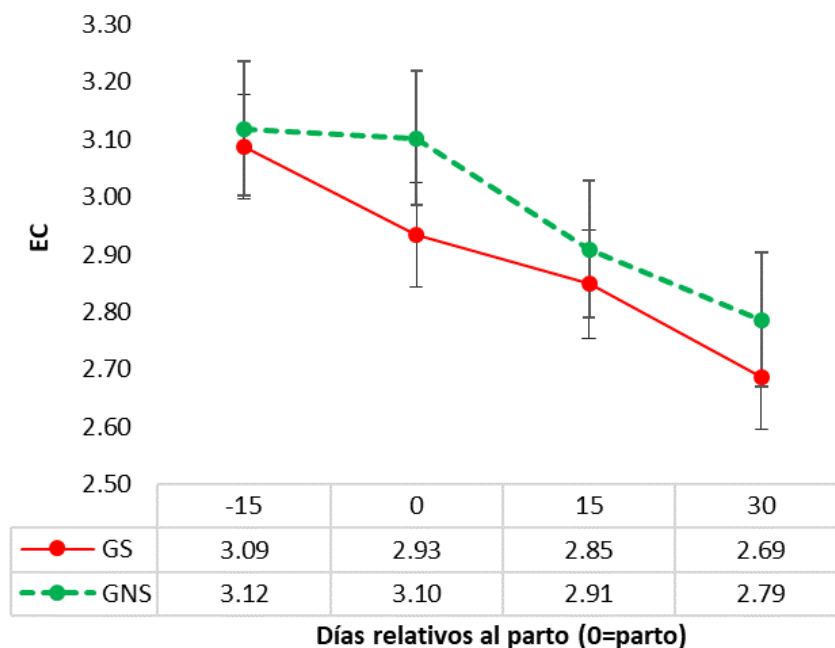


Figura 17. Estado corporal en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

### 13.8. Concentración de ácidos grasos no esterificados en suero sanguíneo

No se encontraron diferencias en la concentración de AGNE en sangre entre los tratamientos ( $p=0,51$ ). La concentración promedio en el grupo GS fue de  $0,52\pm 0,04$  mMol/L mientras que en el grupo GNS fue de  $0,48\pm 0,04$  mMol/L.

Hubo efecto de los días postparto en la concentración de AGNE, aumentando a partir del día del parto, con relación a la concentración 15 días antes del parto (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en relación a los días postparto (DPP). Día 0: parto.

DPP	Concentración de AGNE (mMol/L)
-15	$0,24\pm 0,04$ b
0	$0,61\pm 0,04$ a
15	$0,64\pm 0,04$ a
30	$0,52\pm 0,04$ a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los días postparto.

La interacción tratamiento-DPP y la hipocalcemia subclínica no afectaron la concentración de AGNE ( $p=0,51$  y  $p=0,12$ , respectivamente). Tampoco hubo efecto de la interacción tratamiento-hipocalcemia subclínica ( $p=0,67$ ), (Figura 18).

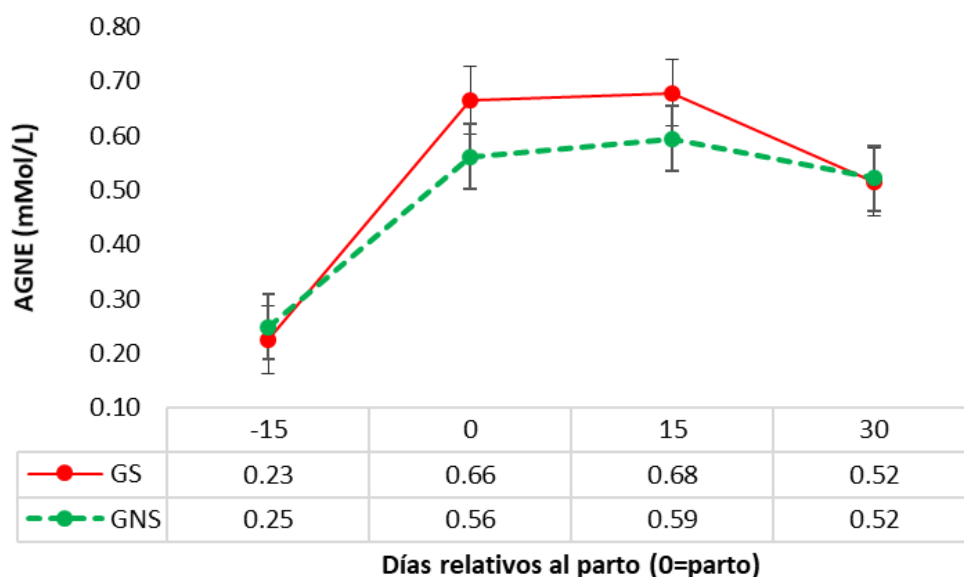


Figura 18. Concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) sérico en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

### 13.9. Concentración de β-hidroxiacetato en suero sanguíneo

No se encontraron diferencias en la concentración de BHB en sangre entre los tratamientos ( $p=0,47$ ). La concentración promedio de BHB de las vacas del grupo GS fue de  $0,73\pm 0,09$  mMol/L y del grupo GNS fue de  $0,63\pm 0,09$  mMol/L.

En relación a los días postparto hubo diferencias significativas en el nivel de BHB sanguíneo ( $p<0,0001$ ) (Tabla 6).

Tabla 6. Concentración de β-hidroxiacetato (BHB) en relación a los días postparto (DPP). Día 0: parto.

DPP	Concentración de BHB (mMol/L)
-15	$0,45\pm 0,08b$
0	$0,40\pm 0,08b$
15	$0,95\pm 0,08a$
30	$0,91\pm 0,04a$

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los días postparto.

Hubo efecto de la interacción tratamiento-DPP ( $p=0,03$ ) sobre la concentración de BHB (Figura 19).



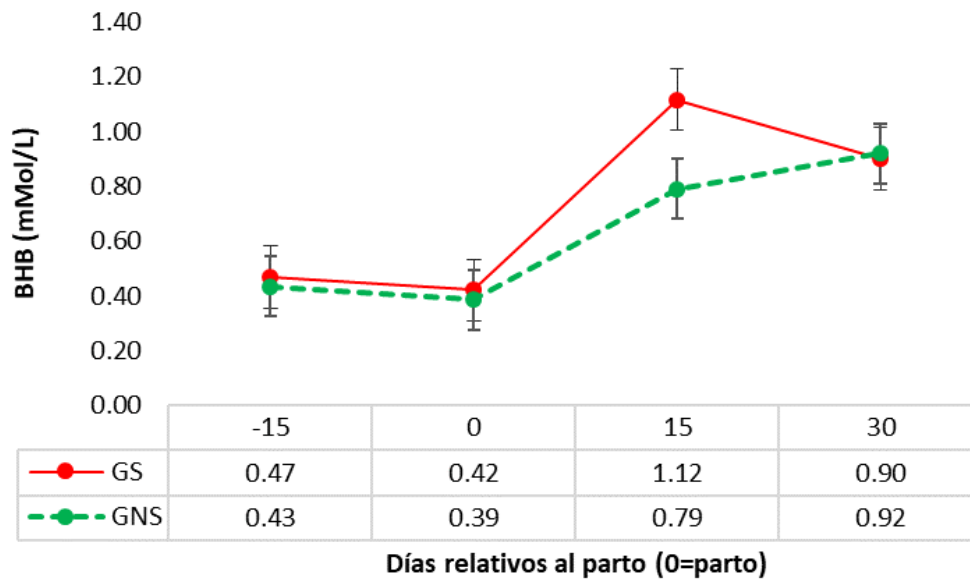


Figura 19. Concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) en relación a los días del parto. GS: grupo suplementado con calcio, GNS: grupo no suplementado.

La concentración de BHB no se vio afectada por la presentación de hipocalcemia subclínica ( $p=0,63$ ) y tampoco hubo efecto de la interacción tratamiento-hipocalcemia subclínica ( $p=0,64$ ).

De acuerdo a la concentración de BHB en el postparto, el grupo GS presentó 21% de vacas con cetosis subclínica, y el grupo GNS 17%.

## 14. DISCUSION

Las vacas de este experimento estuvieron en promedio 20 días en el parto consumiendo una dieta aniónica con un DCAD entre -34 y -55 mEq/Kg de materia seca, de acuerdo al análisis realizado de dos muestras de TMR. Los días que las vacas permanecieron en el parto se encuentran dentro de las 3 semanas que establece Goff (2008). Lo más recomendado al administrar este tipo de dieta en el parto, es alcanzar un DCAD de -50 a -100 mEq/Kg de materia seca (Goff y Horst, 1997), por lo que el DCAD de una de las muestras de alimento analizadas, no está dentro del rango recomendado. Los resultados de los alimentos, concuerdan con los valores de pH de orina, debido a que fue disminuyendo hasta el momento del parto hasta 7,44, pero no se logró el efecto esperado para reflejar la acidosis metabólica leve que produjera un mayor efecto de la PTH en sus tejidos diana, con el objetivo de aumentar la movilización de Ca y absorción del mismo. Según Horst y col. (1997) y Goff y Horst (2003) el pH de orina deseado para activar los mecanismos homeorréticos de regulación del Ca tendría que encontrarse entre 6,2 y 6,8, y no debería bajar de 5,5 donde podrían aparecer signos clínicos de acidosis metabólica. En las vacas de este trabajo se encontró que existieron variaciones en el valor de pH en una misma vaca en distintos días. Esto puede deberse probablemente a que existió una fluctuación en el consumo de los animales. Era evidente que había vacas con pH óptimo un día y en el siguiente muestreo, el pH estaba fuera del rango óptimo. Las fluctuaciones en el consumo pueden deberse a dos motivos, siendo el ofrecimiento de la mezcla una vez al día, probablemente el más importante y además, el efecto dominancia de algunas vacas que puede haber determinado consumos distintos entre los individuos del grupo. Uno de los componentes más importantes para la prevención de la hipocalcemia es el CMS; se debe tratar que no se altere el consumo de las dietas aniónicas ya que se afectaría el mecanismo para maximizar la absorción intestinal de calcio y es aquí donde se reflejan las inconsistencias en la bajada y subida del pH, por lo que es necesario que este se mantenga por 10 a 11 días para un correcto control de la homeostasis del calcio. Claramente pudo haber pasado que las vacas del experimento no lograron la adaptación debido al consumo inadecuado de materia seca, reflejándose en el pH que no se mantuvo constante. Como conclusión de esta fase del trabajo, es muy importante a tener en cuenta para la implementación de dietas aniónicas, primero el análisis de los componentes de la dieta, previo al inicio del parto, de manera de ajustar las dietas aniónicas y en segundo lugar, asegurar el consumo uniforme del alimento, es decir, que la oferta de alimento no sea una limitante. Este último aspecto, en los sistemas de producción del país puede ser un factor limitante, ya sea por la infraestructura en los establecimientos, así como por la disponibilidad de maquinaria para realizar el suministro de alimento más de una vez al día.

El porcentaje de calcio en la dieta administrada en nuestro trabajo (0,9-1% de materia seca) coincide con lo recomendado por Goff (2008), el cual indica como niveles adecuados de 0,85 a 1% de materia seca. Como se mencionó anteriormente la dieta con sales aniónicas no tuvo el efecto deseado, esto puede ser una de las causas de tan elevada incidencia de hipocalcemia.

La concentración de P en la dieta suministrada en nuestro experimento era de un 0,4% de materia seca. Los valores recomendados por el NRC (2001) son 0,4% de materia seca, pero Lean y col. (2006) al administrar una

concentración de P en la dieta de 0,3% obtuvieron una disminución en el riesgo a sufrir hipocalcemia del 18% al comparar con el valor recomendado. Anteriormente Barton y col. (1987) habían llegado a concluir que las vacas alimentadas con el 70% de los requerimientos de P en el preparto, tuvieron una calcemia más alta en los 3 a 5 días después del parto, en relación con vacas alimentadas con el 100% de los requerimientos de P. Este autor también señala que estos resultados pueden deberse a que la dieta baja en P mejora la absorción intestinal de Ca.

La relación Ca-P en la dieta en este trabajo fue de 2,5-1 y 2,25-1 en las dos muestras analizadas. Beitz y col. (1974) en su experimento concluyeron que vacas alimentadas con una relación Ca-P de 2,3-1 tuvieron una mayor concentración de calcio en plasma de las 48 horas a 4 semanas postparto que las vacas alimentadas con una relación Ca-P de 1,1-1.

Como se mencionó anteriormente, a pesar de que la concentración de Ca y P en la dieta ofrecida estuvo dentro de lo recomendado, no se logró el efecto de la dieta acidógena, lo que se vio reflejado tanto en la incidencia de HC, como de HSC (92%). Esto es porque el 32% de las vacas del grupo GS manifestaron HC, mientras que en el grupo GNS las vacas que presentaron esta afección representaron el 11%. Estos porcentajes son altos en relación a los datos obtenidos en tambos de Uruguay por Pereira y col. (2017) donde un 2% de las vacas multíparas presentaron HC y 62% HSC. También se encuentran por encima del 5% de vacas con HC establecido por NAHMS (2002) en Estados Unidos.

Los niveles menores de calcio se observaron en los días 0, 1 y 2 (1,98mMol/L; 1,75mMol/L y 1,94mMol/L respectivamente) en el grupo GS, y en los días 0 y 1 (1,66mMol/L y 1,73mMol/L respectivamente) en el grupo GNS. Esto concuerda con lo dicho por Goff (2008) de que los niveles más bajos de calcemia se producen entre las 12 y 24 horas postparto.

Con relación a las demás enfermedades del periparto, el 5% de las vacas de cada grupo presentó retención de placenta con posterior metritis. Pereira y col. (2017) informan que el 5% de la vaca masa presentó estas dos patologías. Con respecto a la mastitis, en el grupo GS hubo una incidencia del 21% mientras que en el grupo GNS fue de 16%. La diferencia entre los dos grupos puede ser debido a que la hipocalcemia se presentó mayoritariamente en el grupo GS. La hipocalcemia es una enfermedad que predispone a la mastitis por determinar entre otros efectos, el incorrecto cierre del esfínter del pezón (Goff, 2008; Reinhardt y col., 2011). Datos de Giannechini y col. (2002) demostraron una incidencia de 1,2% mensual en el litoral oeste de Uruguay, mientras que Pereira y col. (2017) en tambos de Florida, encontraron un 41% de primeros casos de mastitis clínica en el total de vaca masa. Se debe tener en cuenta que en este trabajo se evaluó la incidencia de mastitis en el primer mes postparto, que justamente es el periodo dónde es esperable tener la mayor proporción de vacas con mastitis clínica (Barkema y col., 1998).

El segundo objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación oral de calcio, cuando se administró una dosis de 420g de propionato de Ca (90g de Ca). Esta suplementación no tuvo efectos significativos sobre los parámetros evaluados. La cantidad de Ca suministrado en el producto coincide con las recomendaciones citadas en la bibliografía. Goff (2008) indica que los mejores resultados se obtienen con dosis de Ca entre 50 y 125g. Martínez y col. (2016) suplementando con dos dosis de 86g de Ca en los días 0 y 1 redujo la incidencia

de HSC con respecto al grupo no suplementado, de 69,3% a 57,5%. En contraste con estos resultados Oetzel y Miller (2012) administraron 2 bolos con 43 g de Ca cada uno, dentro de las 35 horas luego del parto, sin obtener diferencias entre el grupo suplementado y no suplementado. Salgado y col. (2009) afirman que la administración oral de 700g de propionato de Ca 1 a 2 horas postparto no aumenta la concentración sérica de Ca. En contradicción con este último autor, Goff, y col. (2002) administró 680g de propionato de calcio al momento del parto, aumentando significativamente la concentración de Ca en sangre por encima de 2mMol/L (8,0 mg/dl) durante 2 horas y mantuvieron este nivel durante las siguientes 24 horas. Lo interesante de nuestro trabajo fue además que la concentración de Ca estuvo por debajo del umbral deseado incluso hasta los 15 y 30 DPP lo que indica que la hipocalcemia subclínica se prolongó en el tiempo y no fue afectada por la suplementación de Ca luego del parto.

Uno de los aspectos que puede haber determinado la alta incidencia de hipocalcemia, es la concentración de fósforo en sangre, debido a que los niveles de fosfatemia en el preparto se encontraron por encima de 2,3 mMol/L, hecho que ya fue diagnosticado en trabajos anteriores por Noro y Rupprechter (2016). Esta hiperfosfatemia pudo haber influido en la ocurrencia de hipocalcemia mediante la disminución de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Barton y col, 1987).

Los niveles de referencia para la relación Ca-P sanguínea según Wittwer (2012) son entre 1,0 mMol/L y 2,0 mMol/L. En nuestro trabajo la relación Ca-P en el grupo GS fue de  $1,04 \pm 0,04$  mMol/L y en el grupo GNS fue de  $1,01 \pm 0,05$  mMol/L con lo que se encuentran dentro del rango de referencia. Sin embargo, la semana antes del parto, la relación Ca-P se encontró por debajo de 1,0 (GS=0,94; GNS=0,88), esto pudo aumentar la incidencia de hipocalcemia (Horst y col., 1997).

Los niveles de magnesio en sangre nunca se encontraron por debajo de los niveles normales (0,75-1,0 mMol/L), lo que nos indica que en nuestro trabajo la hipomagnesemia no fue una causa de hipocalcemia como se indica en la bibliografía (Lean y col, 2006).

El estado corporal en ambos grupos fue disminuyendo desde el día -15 preparto hasta el final del periodo experimental. Esto coincide con Bell (1995) y Grummer (1995) que afirman que el CMS disminuye hasta un 30% en las 3 semanas antes del parto y aumentan los requerimientos de las vacas, generando el BEN y la movilización de reservas. Roche y col. (2009) afirman que las vacas deben parir con un EC entre 3,0 y 3,25, y las vacas del presente trabajo tuvieron un EC al parto de 2,93 en el grupo GS y 3,10 en el grupo GNS, por lo que se encuentran en el límite inferior.

La movilización de reservas quedó evidenciada a través de la concentración de AGNE. La concentración sanguínea de AGNE a los 15 días preparto, fue de  $0,24 \pm 0,04$  mMol/L, este valor se encuentra por debajo del límite de referencia para el preparto (0,3-0,5 mMol/L). Desde el parto hasta los 30 días postparto los AGNE se encontraron entre 0,52 y 0,64 mMol/L, también por debajo del límite de referencia (0,7-1,0 mMol/L) (LeBlanc y col., 2005; Ospina y col., 2010; Chapinal y col., 2011; Roberts y col., 2012). Estos valores de los AGNE indican que, si bien ocurrió el BEN, el mismo no fue muy pronunciado como para determinar riesgo a otras enfermedades.

De acuerdo a la concentración de BHB, el grupo GS presentó 21% de las vacas con cetosis subclínica, mientras que el grupo GNS presentó el 17%

de las vacas con esta misma enfermedad. Compton y col. (2014) observaron una prevalencia del 24% en vacas con 7 a 12 días en leche, por lo que nuestros datos son levemente menores. A su vez Vanholder y col. (2015) tuvo un 47,2% de las vacas con cetosis subclínica.

En nuestro trabajo las concentraciones de BHB para ambos tratamientos durante el periodo preparto (15 días antes del parto) tuvieron un valor medio de  $0,45 \pm 0,08 \text{mMol/L}$ , el cual se encuentra por debajo de los valores reportados por Chapinal y col. (2011) quien indica que las concentraciones preparto por encima de  $0,8 \text{mMol/L}$  se asocian con riesgo de enfermedad.

El BHB sanguíneo promedio se encontró más alto a los 15 y 30 días postparto ( $0,95 \pm 0,08 \text{mMol/L}$  y  $0,91 \pm 0,04 \text{mMol/L}$  respectivamente), pero siempre por debajo del límite de referencia ( $1,2 \text{mMol/L}$ ) que se considera para cetosis subclínica (Compton y col., 2014; Daros y col., 2017). Sin embargo, estos valores se encuentran por encima del  $0,8 \text{mMol/L}$  mencionado por Chapinal y col. (2011).

El suplemento oral utilizado en este trabajo, también contenía 400g de propilenglicol que junto con el propionato de calcio son dos precursores gluconeogénicos. Goff y col. (2002) suministrando propionato de calcio oral desde 680g en adelante luego del parto, redujeron la concentración sanguínea de BHB en relación a las vacas que no recibieron tratamiento. Este efecto no se observó en nuestro trabajo ya que los valores de BHB en los dos grupos fueron similares, aunque la dosis de Goff y col. (2002) fue mayor.

## **15. CONCLUSIONES**

La dieta aniónica preparto no logró los resultados esperados, hecho que fue evidenciado por la escasa reducción del pH de la orina, manteniéndose por encima de los valores esperados y por la alta incidencia de hipocalcemia clínica y subclínica. Esto remarca la importancia de hacer una adecuada formulación de la dieta, evaluando previamente los iones de los ingredientes y posteriormente es fundamental realizar el monitoreo de la adaptación a las mismas, prestando especial cuidado al consumo de la dieta preparto.

La suplementación oral de Ca, dentro de las 6 horas luego del parto, no tuvo efecto en la HC, ni en la HSC, ni en el resto de las enfermedades del periparto en vacas multíparas.

## 16. BIBLIOGRAFÍA

1. Adrien, ML; Mattiauda, DA; Artegoitia, V; Carriquiry, M; Motta, G; Bentancur, O; Meikle A. (2012) Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of *post-partum* ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*; 6:292-299.
2. Albornoz, LL. (2006) Hipocalcemia puerperal: variaciones de minerales en el parto y evaluación de tratamientos. Tesis de Maestría en Salud Animal, Facultad de Veterinaria, UDELAR, 85 p.
3. Albornoz, L; Albornoz, JP; Morales, M; Fidalgo, LE. (2016) Hipocalcemia Puerperal Bovina. Revisión. *Veterinaria*. 52:28-38.
4. Alonso, AJ; González, JR. (1997) Profilaxis de la paresia puerperal hipocalcémica bovina. *Medicina Veterinaria*; 14:610-614.
5. Barkema, HW, Scukken, YH; Lam, TJ; Beibjer, ML; Wilmink, H; Benedictus, G; Brand, A. (1998) Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*; 81:411-419.
6. Barton, BA; Jorgensen, NA; DeLuca, HG. (1987) Impact of Prepartum Dietary Phosphorus Intake on Calcium Homeostasis at Parturition. *Journal of Dairy Science*; 70:1186-1191.
7. Beitz, DC.; Burkhart, DJ; Jacobson, NL. (1974) Effects of Calcium to Phosphorus Ratio in the Diet of Dairy Cows on Incidence of Parturient Paresis. *Journal of Dairy Science*; 57:49-55.
8. Bell, AW. (1995) Regulation of Organic Nutrient Metabolism During Transition from Late Pregnancy to Early Lactation. *Journal of Animal Science*; 73:2804-2819.
9. Berge, AC; Vertenten, G. (2014) A field study to determine the prevalence, dairy herd managements systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science*; 97:1-10.
10. Bertics, SJ; Grummer, RR; Cadorniga-Valino, C; Stoddard, EE. (1992) Effect of Prepartum Dry Matter Intake on Liver Triglyceride Concentration and Early Lactation. *Journal of Dairy Science*; 75:1914-1922.
11. Blas, C; Resch, C; Amor, J; García, P. (1998) Utilización de sales aniónicas en dietas para vacas secas. Curso de especialización FEDNA, 14°. Madrid, España, p. 32-40.
12. Block, E. (1984) Manipulating Dietary Anions and Cations for Prepartum Dairy Cows to Reduce Incidence of Milk Fever. *Journal of Dairy Science*; 67:2939-2948.
13. Block, SS; Butler, WR; Ehrhardt, RA; Bell, AW; Van Amburgh, ME; Boisclair, YR. (2001) Decreased concentration of plasma leptin in parturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology*; 171:339-348.
14. Blood, DC; Radostits, OM; Arundel, JH; Gay, CC. (1992) *Medicina Veterinaria*. 7ª ed. México, McGraw-Hill Interamericana, V. 2.
15. Bobe, G; Young, JW; Beitz, DC. (2004) Invited review: Pathology, Etiology, Prevention, and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 87:3105-3124.

16. Bostedt, H; Bless, S. (1993) Überprüfung einiger Verfahren zur Prophylaxe der Gebärdparese beim Rind. *Tierärztl Umschau*; 48: 424-431.
17. Burton, JL; Madsen, SA; Chang, LC; Weber, PSD; Buckhman, KR; van Dorp, R; Hickey, MC; Earley, B. (2005) Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 105:197-219.
18. Carriquiry, M; Adrien, L; Artegoitia, V; Mattiauda, D; Meikle, A. (2010) Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in dairy cows on grazing conditions: hepatic expression of fatty acid metabolism genes. *Journal of Dairy Science*; 93 (E-Suppl 1): 390.
19. Cavestany, D; Kulcsár, M; Crespi, D; Chilliard, Y; La Manna, A; Balogh, O; Keresztes, M; Delavaud, C; Huszenieza, G; Meikle, A. (2009) Effect of Prepartum Energetic Supplementation on Productive and Reproductive Characteristics, and Metabolic and Hormonal Profiles in Dairy Cows under Grazing Conditions. *Reproduction in Domestic Animals*; 44:663-671.
20. Chapinal, N; Carson, M; Duffield, TF; Capel, M; Godden, S; Overton, M; Santos, JEP; LeBlanc, SJ. (2011) The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science*; 94:4897-4903.
21. Chilliard, Y; Bonnet, M; Delavaud, C; Faulconnier, Y; Leroux, C; Djiane, J; Bocquier, F. (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic Animal Endocrinology*; 21:271-295.
22. Christensen, JO; Grummer, RR; Rasmussen, FE; Bertics, SJ. (1997) Effect of Method of Delivery of Propylene Glycol on Plasma Metabolites of Feed-Restricted Cattle. *Journal of Dairy Science*; 80:563-568.
23. Compton, CW; McDougall, S; Young, L; Bryan, MA. (2014) Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasture-grazed dairy cows in New Zealand in early lactation. *New Zealand Veterinary Journal*; 62:30-37.
24. Contreras, PA. (2002) Paresia puerperal hipocalcémica. *Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria, 7º*. León, España, p. 30-34.
25. Contreras, LL; Ryan, CM; Overton, TR. (2004) Effects of Dry Grouping Strategy and Prepartum Body Condition Score on Performance and Health of Transition Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 87:517-523.
26. Corbellini, C. (1998) Etiopatogenia e controle da hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas leiteiras. *Anais do Seminário Internacional sobre deficiências Minerais em Ruminantes*. Porto Alegre, Brasil, p. 1-17.
27. Corbellini, C. (1999). Las enfermedades de la producción en las vacas lecheras en transición. *Jornadas Uruguayas de Buiatría, 27º*. Paysandú, Uruguay, p. 64-81.
28. Corbellini, C. (2000). Influencia de la Nutrición en las enfermedades de la producción de las vacas lecheras en transición. *Congreso Mundial de Buiatría, 21º*. Punta del Este, Uruguay, p. 689.
29. Curtis, CR; Erb, HN; Sniffen, CJ; Smith, RD; Powers, PA; Smith, MC; White, ME; Hillman, RB; Pearson, EJ. (1983) Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 183:559-561.



30. Daros, RR; Hötzel, MJ; Bran, JA; LeBlanc, SJ; von Keyserlingk, MA. (2017) Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*; 145:16-22.
31. DeGaris, PJ; Lean, IJ. (2009) Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*; 176:58-69.
32. Delavaud, C; Ferlay, A; Faulconnier, Y; Bocquier, F; Kann, G; Chilliard, Y. (2002) Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *Journal of Animal Science*; 80:1317-1328.
33. Dhiman, TR; Sasidharan, V. (1999) Effectiveness of Calcium Chloride in Increasing Blood Calcium Concentrations of Periparturient Dairy Cows. *Journal of Animal Science*; 77:1597-1605.
34. DIEA. (2018). Anuario estadístico agropecuario. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: [https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2018/Anuario\\_2018.pdf](https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2018/Anuario_2018.pdf) Fecha de consulta: 20 de octubre del 2018.
35. Dishington, IW. (1975) Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 16:503-512.
36. Drackley, JK. (1999) Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? *Journal of Dairy Science*; 82:2259-2273.
37. Drackley, JK; Dann, HM; Douglas, N; Janovick, NA; Litherland, NB; Underwood, JP; Looor, JJ. (2005) Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to pariparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science*. 4:323-344.
38. Drackley, JK; Veenhuizen, JJ; Richard, MJ; Young, JW. (1991) Metabolic Changes in Blood and Liver of Dairy Cows During Either Feed Restriction or Administration of 1,3-Butanediol. *Journal of Dairy Science*; 74:4254-4264.
39. Duffield, TF; Leslie, KE; Sandals, D; Lissemore, K; McBride, BW; Lumsden, JH; Dick, P; Bagg, R. (1999) Effect of a Menensin-Controlled Release Capsule on Cow Health and Reproductive Performance. *Journal of Dairy Science*; 82:2377-2384.
40. Duffield, TF; Lissemore, KD; McBride, BW; Leslie, KE. (2009) Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*. 92:571-580.
41. Edmonson, AJ; Lean, IJ; Weaver, LD; Farver, T; Webster, G. (1989) A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 72:68-78.
42. Ender, F; Dishington, WI; Helgebostad, A. (1971) Calcium Balance Studies in Dairy Cows under Experimental Induction and Prevention of Hypocalcaemic Paresis Puerperalis. The solution of the aetiology and the prevention of milk fever by dietary means. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*; 28:233-256.
43. Espino, L; Suárez, ML; Santamarina, G; Goicoa, A; Fidalgo, LE. (2004) Utilización de las sales aniónicas en la prevención de la paresia puerperal hipocalcémica. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 37:7-13.

44. Esposito, G; Irons, PC; Webb, EC; Chapwanya, A. (2014) Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*; 144: 60-71.
45. Etherton, TD; Bauman, DE. (1998) Biology of Somatotoprin in Growth and Lactation of Domestic Animals. *Physiological Reviews*. 73:745-761.
46. Ferguson, JD; Galligan, DT; Thomsen, N. (1994) Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*; 77:2695-2703.
47. Galvao, KN; Greco, LF; Vilela, JM; Sá Filho, MF; Santos, JE. (2009) Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*; 92:1535-1542.
48. Gamelli, RL; Liu, H; He, L; Hofmann, CA. (1996) Augmentations of glucose uptake and glucose transporter- 1 in macrophages following termal injury and sepsis in mice. *Journal of Leukocyte Biology*. 59: 639-647.
49. Garmendia, J. (2005) Suplementación estratégica de vacas de doble propósito alrededor del parto. Seminario de Pastos y Forrajes, 9°. Maracay, Venezuela, p. 112-129.
50. Gerloff, BJ; Herdt, TH; Emery, RS. (1986) Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 188:845-850.
51. Goff, JP. (1999) Traetment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*; 15:619-639.
52. Goff, JP. (2008) The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcaemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*; 176:50-57.
53. Goff, JP; Brown, TF; Stokes, SR; Brawley, CL; Valdez, FR. (2002) Titration of the proper dose of calcium propionate (NutroCAL) to be included in an oral drench for fresh cows. *Journal of Animal Science*; 85(Suppl. 1):189.
54. Goff, JP; Kehrli, ME; Horst, RL. (1989) Periparturient Hypocalcemia in Cows: Prevention Using Intramuscular Parathyroid Hormone. *Journal of Dairy Science*; 72: 1182- 1187.
55. Goff, JP; Ruiz, R; Horst, RL. (2004) Relative Acidifying Activity of Anionic Salts Commonly Used to Prevent Milk Fever. *Journal of Dairy Science*; 87:1245-1255.
56. Goff, JP; Horst, RL. (1993) Oral Administration of Calcium Salts for Treatment of Hypocalcemia in Cattle. *Journal of Dairy Science*; 76:101-108.
57. Goff, JP; Horst, RL. (1994) Calcium Salts for Treating Hypocalcemia: Carrier Effects, Acid-Base Balance, and Oral Versus Rectal Administration. *Journal of Dairy Science*; 77:1451-1456.
58. Goff, JP; Horst, RL. (1997) Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *Journal of Dairy Science*; 80:1260-1268.
59. Goff, JP; Horst, RL. (2003) Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hipocalcemia (milk fever) - the DCAD theory in principal and practice. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 97:51-56.

60. Goldhawk, C; Chapinal, N; Veira, DM; Weary, DM; von Keyserlingk, MAG. (2009) Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*; 92:4971-4977.
61. Graugnard, DE; Bionaz, M; Trevisi, E; Moyes, KM; Salak-Johnson, JL; Wallace, RL; Drackley, JK; Bertoni, G; Loores, JJ. (2012) Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum. *Journal of Dairy Science*; 95:1749-1758.
62. Grinberg, N; Elazar, S; Rosenshine, I; Shpigel, NY. (2008) Beta-Hydroxybutyrate Abrogates Formation of Bovine Neutrophil Extracellular Traps and Bactericidal Activity against Mammary Pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and immunity*; 76:2802-2807.
63. Grummer, R. R. (1995) Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*; 73:2820-2833.
64. Grummer, RR; Mashek, DG; Hayirli, A. (2004) Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*; 20:447-470.
65. Herdt, TH. (2000) Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*; 16:215.
66. Hernandez, J; Risco, CA; Elliott, JB. (1999) Effect of oral administration of a calcium chloride gel on blood mineral concentrations, parturient disorders, reproductive performance, and milk production of dairy cows with retained fetal membranes. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 215:72-76.
67. Holtenius, K; Agenäs, S; Delavaud, C; Chilliard, Y. (2003) Effects of Feeding Intensity During the Dry Period 2. Metabolic and Hormonal Responses. *Journal of Dairy Science*; 86:883-891.
68. Horst, RL; Goff, JP; Reinhardt, TA. (1997) Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*; 80:1269-1280.
69. Horst, RL; Goff, JP; McCluskey, BJ. (2003) Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. *Journal of Dairy Science*; 86 (Suppl. 1):247.
70. Houe, H; Ostergaard, S; Thilsing-Hansen, T; Jorgensen, RJ; Larsen, T; Sorensen, JT; Agger, JF; Blom, JY. (2001) Milk Fever and Subclinical Hypocalcaemia- An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 42:1-29.
71. INALE (2014). Encuesta Lechera. Disponible en: <http://www.inale.org/innovaportal/v/4086/4/innova.front/primeros-resultados-de-la-encuesta-lechera-inale-2014.html> Fecha de consulta: 18 de octubre del 2018.
72. Ingvarstsen, KL; Dewhurst, RJ; Friggens, NC. (2003) On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*; 83:277-308.
73. Ingvarstsen, KL. (2006) Feeding- and management- related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to

- reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*; 126:175-213.
74. Ingvartsen, KL; Moyes, K. (2011) Nutrition, immune function and health of herbivores. *International Symposium on the Nutrition of Herbivores, 8<sup>o</sup>*. Tjele, Denmark, p. 575.
  75. Ingvartsen, KL; Moyes, K. (2013) Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*; 7:112-122.
  76. Ingvartsen, KL; Moyes, KM. (2015) Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. *Japanese Journal of Veterinary Research*; 63:S15-S24.
  77. Janovick, NA; Drackley, JK. (2010) Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Sciences*; 93:3086-3102.
  78. Jones, JI; Clemmons, DR. (1995) Insuline-Like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions. *Endocrine Reviews*; 16:3-34.
  79. Jonsson, G; Pehrson, B. (1970) Trials with Prophylactic Treatment of Parturient Paresis. *The Veterinary Record*; 87:575-583.
  80. Kadokawa, H; Blache, D; Yamada, Y; Martin, GB. (2000) Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*. 12:405-411.
  81. Kaufman, EI; LeBlanc, SJ; McBride, BW; Duffield, TF; DeVries, TJ. (2016) Association of rumination time with subclinical ketosis in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*; 99:1-15.
  82. Kehrl, ME; Ridpath, JF; Neill, JD. (2009) Immune Suppression in Cattle: Contributors and Consequences. *NMC Annual Meeting Proceedings*. 103-112.
  83. Kichura, TS; Horst, RL; Beitz, DC; Littledike, ET. (1982) Relationships between Prepartal Dietary Calcium and Phosphorus, Vitamin D Metabolism, and Parturient Paresis in Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*; 112:480–487.
  84. Kimura, K; Goff, JP; Kehrl, ME; Reinhardt, TA. (2002) Decreased Neutrophil Fuction as a Cause of Retained Placenta in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*; 85:544-550.
  85. LeBlanc, SJ. (2008) Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*; 176:102-114.
  86. LeBlanc, SJ; Leslie, KE; Duffield, TF. (2005) Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*; 88:159-170.
  87. Lean, IJ; DeGaris PJ; McNeil DM; Block E. (2006) Hypocalcemia in Dairy Cows: Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. *Journal of Dairy Science*; 89(2):669–684.
  88. Liefers, SC; Veerkamp, RF; te Pas, MF; Delavaud, C; Chilliard, Y; van der Lende, T. (2003) Leptin Concentrations in Relation to Energy Balance, Milk Yield, Intake, Live Weight, and Estrus in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 86:799-807.
  89. Lucy, MC; Jiang, H; Kobayashi, Y. (2001) Changes in the Somatotrophic Axis Associated with the Initiation of Lactation. *Journal of Dairy Science*; 84 (E. Suppl):113-119.

90. Martens, H; Schweigel, M. (2000) Pathophysiology of Grass Tetany and Other Hypomagnesemias. Implications for Clinical Management. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 16:339-368.
91. Martínez, N; Sinedino, PLD; Bisinotto, RS; Daetz, R; Risco, CA; Galvao, KN; Santos, PEC. (2016) Effects of oral calcium supplementation on productive and reproductive performance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*; 99:1-44.
92. McGuire, MA.; Vicini, JL; Bauman, DE; Veenhuizen, JJ. (1992). Insuline-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *Journal of Animal Science*; 70:2901-2910.
93. Meikle, A; Kulcsar, M; Chilliard, Y; Febel, H; Delavaud, C; Cavestany, D; Chilbroste, P. (2004) Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*; 127:727-737.
94. Mulligan, F; O'Grady, L; Rice, D; Doherty, M. (2006) Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. *Irish Veterinary Journal*; 59:697-702.
95. Mulligan, FJ; Doherty, ML. (2008) Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*; 176:3-9.
96. Murray, RD; Horsfield, JE; McCormick, HJ; Williams, HJ; Ward, D. (2008) Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle. *The Veterinary Record*; 163:561-565.
97. Nafikov, RA; Ametaj, BN; Bobe, G; Koehler, KJ; Young, JW; Beitz, DC. (2006) Prevention of Fatty Liver in Transition Dairy Cows by Subcutaneous Injections of Glucagon. *Journal of Dairy Science*; 89:1533-1545.
98. NAHMS (2002). National Animal Health Monitoring Service. Part I: Reference of dairy health and management in the United States. Disponible en: [https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/nahms/dairy/downloads/dairy02/Dairy02\\_dr\\_PartI.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy02/Dairy02_dr_PartI.pdf) Fecha de consulta: 28 de octubre del 2018.
99. NRC. National Research Council. (2001) Nutrient requirements of dairy cattle. 7a. ed. Washington D.C., National Academy Press. 381 p.
100. Noro, M; Rupprechter, G. (2016) Resultados de perfiles metabólicos de vacas lecheras provenientes de tambos uruguayos. *Jornadas Uruguayas de Buiatria*, 44°. Paysandú, Uruguay, p. 191-193.
101. Oetzel, GR. (1993) Use of Anionic Salts for Prevention of Milk Fever in Dairy Cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*; 15:1138-1146.
102. Oetzel, GR. (2004) Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*; 20:651-674.
103. Oetzel, GR; Miller, BE. (2012) Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*; 95:7051-7065.
104. Ospina, PA; Nydam, DV; Stokol, T; Overton, TR. (2010) Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of Dairy Science*; 93:3595-3601.

105. Paape, M; Mehrzad, J; Zhao, X; Dettleux, J; Burvenich, C. (2002) Defense of the Bovine Mammary Gland by Polymorphonuclear Neutrophil Leukocytes. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*; 7:109-121.
106. Pereira, I; Laborde, D; Lopez-Villalobos, N; Rupprechter, G; Carriquiry, M; Meikle, A. (2010) Blood metabolic profiles in Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein-Friesian dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*; 70:311-315.
107. Queen, G; Miller, GY; Masterson, MA. (1993) Effects of oral administration of a calcium-containing gel on serum calcium concentration in postparturient dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 202:607-609.
108. Radostits, OM; Gay, CC; Blood, DC; Hinchcliff, KW. (2002) *Medicina Veterinaria: Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*, 9<sup>a</sup> ed. Madrid, McGraw Hill, V. 2.
109. Reinhardt, TA; Lippolis, JD; McCluskey, BJ; Goff, JP; Horst RL. (2011) Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*; 188:122–124.
110. Rhoads, ML; Rhoads, RP; VanBaale, MJ; Collier, RJ; Sanders, SR; Weber, WJ; Crooker, BA; Baumgard, LH. (2009) Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *Journal of Dairy Science*; 92:1986- 1997.
111. Roberts, T; Chapinal, N; Le Blanc, SJ; Kelton, DF; Dubuc, J; Duffield, TF. (2012) Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *Journal of Dairy Science*; 95:3057-3063.
112. Roche, JR; Friggens, NC; Kay, JK; Fisher, MW; Stafford, J; Berry, DP. (2009) Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*; 92:5769-5801.
113. Rude, RK. (1998) Magnesium Deficiency: A Cause of Heterogenous Disease in Humans. *Journal of Bone and Mineral Research*; 13:749-758.
114. Salgado, EG; Bouda, J; Ávila, J; Navarro, JA. (2009) Effect of postpartum administration of calcium and ketone bodies in dairy cows. *Veterinaria México*; 40:17-26.
115. Schukken, YH; Günther, J; Fitzpatrick, MC; Fontaine, MC; Goetze, L; Holst, O; Leigh, J; Petzl, W; Schuberth, HJ; Sipka, A; Smith, DGE; Quesnell, R; Watts, J; Yancey, R; Zerbe, H; Gurjar, A; Zadoks, RN; Seyfert, HM. (2011) Host- response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 144:270-289.
116. Spicer, LJ; Echtenkamp, SE. (1995) The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*; 12:223-245.
117. Studer, VA; Grummer, RR; Bertics, SJ. (1993) Effect of Prepartum Propylene Glycol Administration on Periparturient Fatty Liver in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 76:2931-2939.

118. Tamminga, S; Luteijn, PA; Meijer, RGM. (1997) Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Production Science*; 52:31-38.
119. Thilsing-Hansen, T; Jorgensen, RJ; Ostergaard, S. (2002) Milk fever Control Principles: A Review. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 43:1-19.
120. Van de Braak, AE; Van't Klooster, AT; Malestein, A. (1987) Influence of a deficient supply of magnesium during the dry period on the rate of calcium mobilization by dairy cows at parturition. *Research in Veterinary Science*; 42:101-108.
121. Van Saun, RJ. (2010) Indicators of dairy cow transition risks Metabolic profiles revisited. *Congreso Mundial de Buiatría, 26°*. Santiago, Chile, p. 65-77.
122. Vanholder, T; Papen, J; Bemers, R; Vertenten, G; Berge, ACB. (2015) Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of Dairy Science*; 98:1-9.
123. Wang, C; Velez, JS; Risco, CA; Donovan, GA; Merritt, AM; Beede, DK. (1994) Recent Advances in Prevention of Parturient Paresis in Dairy Cows. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*; 16:1373-1380.
124. Weber, PSD; Madsen-Bouterse, SA; Rosa, GJM; Sipkovsky, S; Ren, X; Almeida, PE; Kruska, R; Halgren, RG; Barrick, JL; Burton, JL. (2006) Analysis of the bovine neutrophil transcriptome during glucocorticoid treatment. *Physiol Genomics*; 28: 97-112.
125. West, JW. (2003) Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*; 86:2131-2144.
126. Wittwer, MF. (2012). *Manual de patología clínica veterinaria, 2ª ed.* Valdivia, Imprenta América, 200 p.
127. Zamet, CN; Colenbrander, VF; Callahan, CJ; Chew, BP; Erb, RE; Moeller, NJ. (1979) Variables associated with peripartum traits in dairy cows. Effect of dietary forages and disorders on voluntary intake of feed, body weight and milk yield. *Theriogenology*; 11:229-244.