



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**“EFICACIA DEL ACIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO EN EL DIAGNÓSTICO
DE HIPOCALCEMIA EN VACAS LECHERAS, DISTRITO DE MOCHE, LA
LIBERTAD, AÑO 2 015”**

**Para optar el Título Profesional de
MEDICO VETERINARIO**

BACH. LUIS ALBERTO CHÁVEZ RÍOS

PIURA - PERU

2 017

INDICE

	Página
Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. Introducción	1
II. Marco Teórico	2
2.1.- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	2
2.1.1.- Definición	2
2.1.2.- Mecanismo de Acción	2
2.1.3.- Ventajas de usar EDTA	3
2.1.4.- Usos en Medicina Veterinaria	3
2.2.- Hipocalcemia	4
2.2.1.- Definición	4
2.2.2.- Sinonimias	5
2.2.3.- Epidemiología	5
2.2.4.- Etiología	6
2.2.4.1.- En el animal	6
2.2.4.2.- En la dieta	7
2.2.5.- Función del calcio	8
2.2.6.- Vitamina D	8
2.2.7.- hormona paratiroidea	9
2.2.8.- Patogenia	10
2.2.9.- Patogenias asociadas a la hipocalcemia	11
2.2.10. Síntomas	12
2.2.11. Diagnóstico	14
2.2.12.- Diagnóstico diferencial	14
2.2.12.1.- Hipomagnesemia (tetania de la lactación de los pastos)	14

2.2.12.2.- Hipopotasemia aguda	15
2.2.12.3.- Toxemia grave (peritonitis guda, mastitis coliforme)	15
2.2.12.4.- Parálisis obstétrica materna (POM)	16
2.2.12.5.- Síndrome de la vaca gorda	16
2.2.12.6.- Síndrome de la vaca echada	17
2.2.12.7.- Lesiones físicas	17
2.2.13.- Lesiones anatómicas por hipocalcemia	18
2.1.14.- Tratamiento	18
2.2.15.- Prevención	20
2.3.- Test rápido para el diagnóstico de hipocalcemia a nivel de campo	21
2.3.1.- Procedimiento	21
2.3.2.- Resultados e interpretación	21
2.4.- Determinación cuantitativa de calcio sérico	22
2.4.1.- Fundamento	22
2.4.2.- Reactivos	23
2.4.3.- Material, equipo e instrumentación	23
2.4.4.- Técnica	23
2.4.5.- Valor de Referencia	24
2.5.- Otros estudios	24
2.5.1.-. Determinación de las concentraciones del calcio, fósforo, magnesio, proteínas totales, urea y glucosa en suero sanguíneo de vacas lecheras holstein mestizas en producción aparentemente sana, en el cantón Cuenca	24
2.5.2.-. Determinación de la concentración de calcio en suero por el método del arsenazo III en el analizador Olympus AU-502	25
2.6.- Variables	26
III. Materiales y Metodos	27
3.1.- Espacio y tiempo	27
3.1.1.- Espacio	27
3.1.2.- Tiempo	27
3.2.- Población y Muestra	28

3.2.1.- Población	28
3.2.2.- Muestra	28
3.3.- Diseño Experimental	28
3.4.- Equipos y procedimientos	29
3.4.1.- Equipos	29
3.4.2.- Procedimiento	30
Primera etapa	30
Segunda etapa	30
Tercera etapa	32
3.5.- Diseño estadístico	32
IV- Resultado	33
V - Discusión	40
VI – Conclusiones	42
VII- Recomendaciones	43
VIII- Referencias Bibliográficas	44
IX- Anexos	47

DEDICATORIA

A la señora Clara Angélica Ríos Bringas, mi madre, por quererme tanto, apoyarme en todo, darme la oportunidad de superarme en esta vida.

AGRADECIMIENTOS

A nuestro señor Jesucristo por guiarme en este camino lleno de dificultades y darme la sabiduría para salir de todos los problemas que he tenido.

A Julio Chávez, mi padre, por apoyarme para seguir adelante. Mis hermanos Ruggeri, Gustavo y Paula, por su ayuda incondicional.

A mis amigos de la Facultad, con quienes me desarrolle en esta profesión.

Al Dr. Eduardo Ganoza Orezzaoli, asesor, amigo y profesor por darme todas las herramientas para desarrollar este trabajo de investigación.

A la Dra. Gabriela Esquivel, por su consejo profesional, al Dr. Alejandro Guzmán porque me abrió las puertas de nuevos horizontes que fueron importantes en la ejecución de este trabajo, al Dr. Cesar Carranza quien me inicio en las bases del tema del que trata este trabajo de investigación; y por último, no menos importantes a todos los docentes de la escuela profesional de Medicina Veterinaria, por la formación académica que me brindaron.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la eficacia del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) en el diagnóstico de hipocalcemia en vacas lecheras. La hipocalcemia es una enfermedad metabólica, donde el animal que la padece muestra bajos niveles de calcio iónico en el torrente sanguíneo debido a múltiples factores, esto hace que quede postrada, disminuya la producción lechera y pueda llegar a morir. La población de ganado bovino del distrito de Moche es de 1 551 animales de los cuales 697 son vacas productoras de leche, donde se aplicó un muestreo intencional a un total de 40 animales. El diseño de investigación que se utilizó es experimental cuasi-experimental, ya que se evaluó un grupo de animales con por lo menos una característica en común entre ellos. El procedimiento que se realizó fue identificar a las vacas caídas post parto, a las cuales se les tomó dos muestras de sangre, aplicando a una de ellas la prueba del EDTA y la otra para su remisión al laboratorio para el diagnóstico de hipocalcemia. Los animales positivos a hipocalcemia en prueba de laboratorio conforman un grupo que llega a un total de veinte y los animales con diagnóstico negativo conforman el segundo grupo de igual número de individuos. El diseño estadístico para el análisis de los resultados estuvo basado en la estadística descriptiva e inferencial. Obtuvimos que, de las 40 vacas muestreadas, se determinó que, en los 20 animales con diagnóstico de laboratorio positivo a hipocalcemia, 17 dieron positivo a la prueba diagnóstica EDTA y 03 negativo; así mismo, se determinó que, en las 20 vacas con diagnóstico de laboratorio negativo a la enfermedad, igualmente la totalidad de ellas dio negativo a la prueba diagnóstica con EDTA. Además, se evaluaron los resultados con la estadística inferencial mediante ANOVA donde se determinó que no existe ninguna diferencia estadística entre la prueba de laboratorio y la diagnóstica de campo EDTA para la determinación de casos positivos o negativos a hipocalcemia. Por lo cual se concluye que la prueba diagnóstica EDTA es específica y sensible para diagnosticar hipocalcemia.

Palabras claves: EDTA, calcio, bovino lechero, sensibilidad, especificidad.

ABSTRACT

This research aimed to determine the effectiveness of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in the diagnosis of hypocalcemia in dairy cows. Hypocalcemia is a metabolic disease where the animal suffers shows low levels of ionized calcium in the bloodstream due to multiple factors, this makes it is prostrated, lower milk production and may eventually die. The population of cattle in the district of Moche is 1 551 animals of which 697 are dairy cows, where a purposive sampling a total of 40 animals was applied. The research design was used quasi-experimental is experimental because a group of animals was assessed with at least one characteristic in common. The procedure was performed to identify postpartum downer cows, to which were took two blood samples, one applying to test EDTA and the other for submission to the laboratory for diagnosis of hypocalcemia. Hypocalcemia positive laboratory test animals make up a group that reaches a total of twenty animals with negative diagnosis make up the second group of the same number of individuals. The statistical design for the analysis of the results was based on the descriptive and inferential statistics. We got that out of 40 cows sampled, it was determined that in the 20 animals with positive laboratory diagnosis of hypocalcemia, 17 tested positive diagnostic test negative EDTA and 03; Likewise, it was determined that in the 20 cows with negative laboratory diagnosis of the disease, all of them also tested negative diagnostic test with EDTA. In addition, the results of inferential statistics were evaluated by ANOVA where it was determined that there is no statistical difference between laboratory testing and diagnostic of EDTA field for determining positive or negative hypocalcemia cases. Therefore it concludes that EDTA diagnostic test is sensitive and specific for diagnosing hypocalcemia.

Keywords: EDTA, calcium, sensitivity, specificity.

I. INTRODUCCION

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica que ocasiona pérdidas, las cuales van desde la baja producción de leche, hasta la muerte del animal. Para evitar que esto ocurra se debe dar tratamiento rápido y preciso, ya que las pérdidas aumentarían si confundimos esta enfermedad con otras muy parecidas, agravando la situación, alargando el tratamiento y arriesgando la vida del animal.

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la sensibilidad y especificidad del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para la detección, en sangre, del ion calcio y su reacción. Donde al presentar un nivel adecuado forma un coagulo considerando la respuesta negativa a hipocalcemia y la falta de coagulo da una respuesta positiva

Así mismo, esta investigación permitirá el uso del EDTA como prueba diagnóstica de hipocalcemia, con un beneficio directo en el ejercicio de la medicina veterinaria, contando con un diagnóstico práctico de esta enfermedad, brindando así la atención y tratamiento oportuno al animal caído por hipocalcemia

II. MARCO TEORICO

2.1.- Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

2.1.1- Definición

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es un titulante hexadentado complejo métrico muy utilizado para hematología, las sales de sodio y potasio en este ácido se comportan como poderosos anticoagulantes ya que inhiben la participación del ion calcio en la cascada de la coagulación de la sangre y no modifica la morfología de las células hemáticas y no modifica la velocidad de sedimentación globular. (1)

El EDTA actúa bloqueando el Calcio ionizado, por quelación llevando la formación del complejo EDTA-Calcio. De esta forma, el efecto en cascada de la coagulación (dependiente de Calcio) es paralizado, inhibiendo las conversiones de la Protrombina en Trombina y la acción de la Trombina en el Fibrinógeno que forma la Fibrina quien junto a las plaquetas constituyen el coágulo. (1)

2.1.2- Mecanismo de acción

Atrapa iones de metales di- y trivalentes, se une a los metales a través de cuatro grupos de carboxilato y dos grupos de amina metálicos que pueden actuar como donantes de pares de electrones, o bases de Lewis para formar enlaces covalentes coordinados a cationes por lo que lo convierte en un ligando hexadentado, y el más

importante de los ligados quelatos. Forma especialmente fuertes enlaces con Ca (II), Cu (II), Fe (III), y Co (III) (1)

Peso Molecular del EDTA: 292 g/mol

Fórmula condensada: C₁₀H₁₆O₈N₂ (1)

2.1.3- Ventajas de usar EDTA

1. Reaccionan con los cationes 1:1 independientemente de la carga del metal.
2. Forma quelatos muy estables con la mayoría de los metales. (1)

2.1.4- Usos en Medicina Veterinaria

Transfusión sanguínea: El EDTA está presente en la bolsa de recolección de sangre, para que al combinarse con la sangre evita la coagulación y de esta manera la sangre pueda ser asimilada integralmente por el organismo que la recibe y no se formen trombos, que pasen de la bolsa de colección al flujo sanguíneo circulante.

Toma de muestras para hemograma: El EDTA está presente en los tubos de muestreo de tapa violeta para que al diluirse con la sangre se evite la formación de coágulos y la sangre permanezca líquida durante el análisis en el microscopio y/o la máquina lectora.

Frotis sanguíneo: El EDTA está presente en los tubos de muestreo con tapa violeta, para que al diluirse con la sangre se evite la formación de coágulos y la sangre permanezca líquida, durante el proceso del frotis y su posterior análisis en el microscopio.

Desintoxicación frente a contaminación por metales pesados: El EDTA se usa en la terapéutica contra intoxicación por metales pesados como el plomo, mercurio; de manera que al unirse a ellos evite que sigan siendo asimilados por el organismo y puedan ser excretados por la orina (1)

2.2 Hipocalcemia

2.2.1.- Definición:

La hipocalcemia o Paresia Puerperal, es una de las enfermedades metabólicas más comunes en el ganado vacuno, en especial en las vacas productoras de leche. Se presenta con mayor frecuencia 24 horas antes del parto y hasta 3 días postparto, y está causada por una incapacidad para equilibrar una demanda de calcio por la producción de leche, caracterizándose por debilidad, postración y en casos severos, shock y muerte del animal. El defecto químico básico de la fiebre de la leche es una depresión de los niveles de calcio en sangre. (2)

En términos generales la enfermedad aparece en ganado lechero lactante de alta producción entre los 5 y 10 años de edad, en vacas obesas y con más frecuencia entre el 3° y 7° parto con tendencia a ser recurrente en los partos posteriores. Hay diferencias de susceptibilidad entre las razas siendo las vacas Jersey las más susceptibles. El momento de presentación oscila entre una semana antes y la semana posterior al parto siendo más común entre 24 horas antes del parto y 96 horas postparto. Es importante recalcar que los niveles séricos de calcio disminuyen en todas las vacas adultas al momento del parto, debido al inicio de la lactación, pero serán susceptibles aquellas vacas que no puedan equilibrar el calcio en sangre con lo requerido para la producción de leche. (2)

El inicio de la lactancia provoca un aumento en la demanda de calcio y por consiguiente en la homeostasis del mismo. Una vaca que produce 10 kg de calostro, perderá un total de 23 gramos de calcio en un solo ordeño. Dicho volumen es diez veces superior a la cantidad de calcio presente en la reserva plasmática de la vaca y la pérdida de esta reserva debe ser reemplazada mediante un aumento en la absorción intestinal y la movilización ósea de calcio. (2)

Parece que la susceptibilidad de la fiebre de la lactación es hereditaria, pues prevalece más en ciertas razas o familias. (3)

2.2.2.- Sinonimias:

Conocida con varios nombres como; hipocalcemia, Paresia puérperal, fiebre de la leche, enfermedad de la vaca caída, Paresia de la parturienta, fiebre de la lactación, fiebre del parto. (4)

2.2.3.- Epidemiología:

El impacto económico no radica en el tratamiento como tal ya que en la actualidad se cuenta con tratamientos y productos efectivos, pero se sabe que existe una relación muy significativa entre fiebre de leche y distocias, retenciones de placenta, hipomagnesemia, cetosis y mastitis. Las vacas que se recuperen de este episodio tienen mayor probabilidad de desarrollar algunas de las anteriores afecciones. (5)

En términos generales, una fiebre de leche reduce potencialmente la vida productiva media de una vaca lechera. Diversos autores han señalado a esta dolencia como la tercera causa de enfermedad postparto. (5)

Tenga en cuenta que un tratamiento mal realizado puede dar lugar a la aparición de otra enfermedad metabólica conocida como síndrome de vaca caída, cuya causa no es únicamente la hipocalcemia que existen diversos actores involucrados. (5)

2.2.4.- Etiología

No existe una causa única para la presentación de la hipocalcemia ya que son varios los agentes desencadenantes del proceso y que pueden ser de tipo hormonal, nutricional, mineral, estrés y otros relacionados con el animal. (6)

2.2.4.1.- Etiología presente en el animal

En el caso de la vaca, los principales factores de riesgo para que se presente la Paresia puerperal son:

- Edad de vaca.
- Números de partos.
- Obesidad.
- Presentación de la enfermedad en partos anteriores.
- Vacas de alta producción.
- Nutrición durante el periodo de seca. (6)

A nivel fisiológico existen tres factores que afectan la homeostasis del calcio y las variaciones en uno o más de ellos pueden tener influencia en la presentación de la enfermedad.

- Pérdida excesiva de calcio en el calostro.
- Deterioro en la absorción del calcio en el intestino delgado.
- Insuficiente movilización de calcio a partir de su reserva ósea. (6)

2.2.4.2.- Etiología por la dieta

Diversas variables de tipo dietético durante las cuatro últimas semanas de gestación pueden influir en la presentación de la fiebre de leche. A nivel de campo se ha comprobado que la alimentación con más de 100 gramos de calcio al día durante el periodo seco se asocia con un aumento en la presentación de la paresia puerperal. Una vaca de 500 Kg. requiere cerca de 30-35 gramos de calcio para satisfacer sus requerimientos diarios y las demandas fetales en esta última etapa de gestación. Cuando una vaca recibe una dieta alta en calcio, sus necesidades se ven casi totalmente satisfechas por la absorción del calcio dietético y en consecuencia los mecanismos de transporte activo de calcio y de resorción ósea están homeostáticamente deprimidos, dando como resultado que al momento del parto la vaca sea incapaz de usar los depósitos óseos o absorberlo intestinalmente. (6)

Las dietas preparto con alimentos bajos en calcio mantienen los mecanismos de absorción y resorción activos, permitiendo que el animal se adapte con mayor rapidez al drenaje lactacional de calcio disminuyendo así la incidencia de la enfermedad. Las dietas altas en calcio pueden suministrarse momentos antes del parto para incrementar la absorción intestinal y suplir una posible falta relativa de calcio procedente de la resorción. (6)

El fósforo también aumenta la incidencia de fiebre de leche especialmente cuando las dietas en periodo de seca contienen niveles por encima de los 50 gramos de fósforo al día. Los altos niveles de fósforo sérico inhiben las enzimas renales que catalizan la producción de vitamina D3, que alrededor, reduce los mecanismos de absorción intestinal. (6)

Estudios recientes indican que el equilibrio anión-cation (EAC) ejerce un potente efecto lineal sobre la incidencia de fiebre de leche. Las dietas altas en cationes tipo sodio y potasio se asocian con un aumento en la ocurrencia, mientras que las dietas ricas en aniones tipo cloro y azufre se asocian con un descenso en la incidencia de la misma. Las dietas ofrecidas a las vacas en Colombia son en su mayoría altamente cargadas de cationes, ya que la concentración de potasio del pasto, hace que la dieta sea altamente positiva. Por lo anterior, el uso de sales aniónicas en Colombia no ofrecerían una alternativa adecuada para la prevención de paresia puerperal. (6)

La deficiencia de magnesio también se ha señalado como causa probable de fiebre de leche ya que el metabolismo de la vitamina D3 y la liberación de la hormona paratiroidea (PTH) son magnesio dependiente. (6)

2.2.5.- Funciones del calcio

El Calcio es necesario para la formación de huesos junto con el fósforo y el magnesio.

- El calcio participa en la coagulación de la sangre como factor de coagulación.
- El calcio participa en la contracción muscular, transmisión nerviosa.
- El calcio contribuye al ritmo cardíaco, reforzando la contracción del miocardio.
- El calcio actúa en la permeabilidad de la membrana celular, como activador de numerosos sistemas enzimáticos.

2.2.6.- Vitamina D

Denominada también como antirraquítica por su efecto ligado íntimamente al metabolismo del calcio y del fósforo (Ca y P), es fundamental para la fijación de estos elementos en la formación de los huesos. La vitamina D₃, es necesaria para la absorción del Ca y P a nivel del intestino regulando su utilización conjuntamente con las hormonas provenientes de las glándulas paratiroides y suprarrenales. A nivel óseo, la vitamina D₃ promueve el movimiento de los iones de calcio hacia el fluido extracelular y estimula los efectos de la parathormona (PTH) sobre el metabolismo del calcio para facilitar la resorción ósea. (6)

La molécula de la vitamina D₃ como tal es inactiva y debe ser transformada por el hígado y el riñón antes de volverse biológicamente activa. Una disminución del calcio da lugar a un incremento en la secreción de PTH y a un aumento en la formación de la vitamina D₃ a través del aumento en la hidroxilación lo que finalmente promueve la absorción de calcio del intestino y la resorción a nivel óseo. (6)

2.2.7.- Hormona paratiroidea

La hormona paratiroidea o PTH tiene el efecto de aumentar las concentraciones de calcio y disminuirlas de fosfato en los fluidos extracelulares. Posee efectos directos sobre el metabolismo de calcio en el hueso y en los riñones y un efecto indirecto a nivel gastrointestinal. El resultado de la acción de la PTH sobre el hueso es una liberación de calcio y fosfato ya nivel renal aumenta la absorción de calcio, disminuye la resorción renal de fosfato y se involucra en la activación de la vitamina D₃ de ahí su efecto indirecto en tracto gastrointestinal. (6)

La secreción de PTH se encuentra controlada por las concentraciones de calcio libre ionizado en la sangre, las disminuciones de dicho elemento estimulan la secreción de PTH y los aumentos en el calcio inactivan dicha secreción. (6)

2.2.8.- Patogenia

Los bajos niveles plasmáticos de calcio son los causantes directos de la atonía de la musculatura esquelética y lisa, la baja presión sanguínea, la baja en el gasto sistólico y cardiaco; entre las consecuencias de estos se encuentran la hipotermia, y el estado de conciencia deprimido. En las etapas iniciales se puede observar excitación, contracturas musculares, tetania, hipersensibilidad y convulsiones de cabeza y extremidades. La baja sérica del calcio afecta el proceso de parto por fallas en la dilatación del cuello uterino y la vulva. Como el calcio interfiere en la liberación de los neurotransmisores (acetilcolina), la hipocalcemia genera deficiencias en la transmisión neuromuscular. Por otro lado, el calcio es necesario para un adecuado funcionamiento de la interacción actina-miosina. Ambos usos del calcio se ven disminuidos en la hipocalcemia, lo que explica la falta de tono muscular y su lenta respuesta. Si el animal, además de hipocalcemia presenta hipomagnesemia, la remisión de los signos es más lenta; sin embargo, un tratamiento contra la deficiencia de magnesio puede generar relajación, debilidad muscular, depresión y coma. (7)

Como el magnesio participa en la transformación de colecalciferol (vitamina D) en 25-hidroxi-colecalciferol (Vitamina D₂) y que este paso es necesario para formar 1-25-hidroxi-colecalciferol (Vitamina D₃ - activa), la hipomagnisemia puede ser predisponente de la hipocalcemia. Los niveles normales de calcio ionizado en sangre de vaca son de 5,1-4,3 mg/dl, en la hipocalcemia ligera los niveles son de 3,2-4,3 mg/dl, en la hipocalcemia moderada de 2,0-3,2 mg/dl y en la grave son inferiores a 2,0 mg/dl. Sin embrago, es difícil medir el calcio iónico, siendo más común la determinación de calcio total, cuyo valor referencia está entre 8 y 10 mg/dl (7)

2.2.9.- Patologías asociadas a la hipocalcemia.

Aumenta la incidencia de retención de placenta y prolapso uterino debido a la disminución de las contracciones uterinas, que hace dificultosa la secundinación (expulsión de secundinas) y la falta de tonicidad muscular que puede llevar a la eversión del útero (Horst et al. 1997).

Los partos son prolongados y dificultosos, aun cuando el canal del parto no se encuentra alterado ni existen problemas de estática fetal y tamaño del mismo debido a que las contracciones uterinas y abdominales son ineficientes.(8)

Aumentan los casos de desplazamiento de abomaso debido a la disminución del consumo y atonía de este órgano. (8)

Aumenta la formación de cuerpos cetónicos y con esto aparecen los problemas de infertilidad; al disminuir el consumo aumenta la movilización de lípidos y por otro lado se ve disminuida la secreción de insulina por lo que la utilización de glucosa se ve afectada. De esta manera aumenta la degradación de lípidos para la obtención de energía que con la gluconeogénesis activada lleva al aumento de los cuerpos cetónicos en sangre ya que el acetyl co-A no puede ingresar al ciclo de Krebs. (8)

La hipocalcemia conduce a la vaca a una situación de estrés que hace aumentar los niveles de cortisona y se establece un estado de inmunosupresión que predispone a muchas enfermedades infecciosas entre estas: mastitis infecciosas, que también se ven favorecidas por una falla en la contracción del esfínter del pezón de las vacas en hipocalcemia que facilita la entrada de microorganismos ambientales y el desarrollo de mastitis toxica a coliformes que puede causar la muerte. (9)

Los síntomas de esta enfermedad pueden corregirse mediante la inyección endovenosa de borogluconato de calcio o la administración oral de geles o sales de calcio, cloruro y propionato respectivamente. (9)

Cuando el tratamiento es realizado en el momento adecuado las vacas logran recuperarse pero quedan susceptibles a sufrir de otros trastornos como son placenta retenida y mastitis a coliformes, que en ambos casos tienen una gran importancia económica ya que el primero alarga el intervalo entre partos y en caso de mastitis se generan pérdidas por tratamiento, descarte de leche y muerte de esos animales. Otras patologías que también pueden manifestarse son la cetosis y la displasia de abomaso que también impactan negativamente al sistema productivo. Mientras que cuando estos animales caídos no son tratados se estima que un 60 – 70 % de ellos mueren(9)

2.2.10. Síntomas

La hipocalcemia es la causa de los signos clínicos típicos de la fiebre de leche entre los que incluyen depresión, anorexia, baja producción de leche, atonía músculo-esquelética y del músculo liso, depresión y decúbito que puede ser esternal o lateral. (10)

Durante periodos de hipocalcemia el flujo sanguíneo a los músculos esqueléticos y tubo digestivo se puede disminuir hasta en un 70% lo que predispone al síndrome de vaca caída o echada. Hay un aumento en la cantidad de PO₂ que causa un deterioro en la captación de oxígeno. (10)

En la paresia puerperal aparecen niveles de fósforo sérico que contribuyen a la presentación de los signos clínicos. Existen pruebas experimentales que apoyan este fenómeno, pero se cree que esta hipofosfatemia es secundaria a la

hipocalcemia y al decúbito, lo realmente importante de la hipofosfatemia es que la misma puede prolongar la duración de la recumbencia. (10)

En el cuadro de la fiebre de leche se reconocen tres etapas:

Etapas 1

La vaca aún permanece de pie, con una breve etapa de excitación, tetania, hipersensibilidad y temblor de la cabeza y las extremidades. El animal no come y se mueve poco debido a una rigidez del tren posterior, hay ataxia y el animal cae con facilidad. Es una etapa de rápida presentación y en general la identificación de este momento es poco probable porque los signos son vagos. (11)

Etapas 2

Es característico el decúbito esternal del animal. La vaca suele estar deprimida y habitualmente con un desplazamiento del cuello o la cabeza hacia el costado. La tetania desaparece y el animal es incapaz de ponerse de pie, la piel y las extremidades están frías y la temperatura rectal está baja. Comúnmente se puede presentar estasis ruminal secundaria y una relajación del ano. (11)

Etapas 3

Es el decúbito lateral del animal, la vaca está comatosa, flacidez completa de los miembros, disminución de la temperatura y el sistema cardiovascular. Es en esta etapa donde se presenta la muerte del animal. (11)

2.2.11. Diagnóstico

El diagnóstico es relativamente fácil. En primer lugar, en la mayoría de los casos (sin complicaciones) responden a la infusión intravenosa de borogluconato de calcio, y en segundo lugar la concentración de calcio en sangre es inferior a los límites normales. El calcio circulante en la sangre, tanto en forma de iones de calcio libre como unido a las proteínas de la sangre tales como la albumina. (12)

Aproximadamente la mitad de calcio en sangre se encuentra en forma iónica y únicamente esta fracción es metabólicamente activa. La determinación de calcio iónico es tediosa y, siempre que las concentraciones de albumina en sangre se mantengan dentro de los límites normales, la determinación del calcio total es completamente útil. (12)

2.2.12.- Diagnóstico Diferencial

Para comprender mejor esta enfermedad metabólica debemos diferenciarla de otras enfermedades comunes, frecuentes y parecidas, en la de vacas lecheras, a continuación, presentamos las siguientes enfermedades, resaltando sus epidemiologías, signos clínicos, pruebas analíticas y respuestas a los tratamientos, para mostrar las diferencias. (13)

2.2.12.1.- Hipomagnesemia (tetania de la lactación de los pastos)

Se presenta en toda clase de ganado vacuno, aunque más recientemente vacas de parto. No hay barrera de edad, los casos aparecen varios meses después del parto. Puede ocurrir en el ganado cárnico gestante. (13)

Se ha observado una incidencia en ganado de crianza extensiva ya que al no controlar bien los pastos de consumo, las vacas buscan los brotes más tiernos, los que no llegan a su desarrollo y presentan bajos niveles de magnesio en su composición, lo que deja una dieta deficiente en magnesio y posteriormente hipomagnesemia.

Se presenta; excitación hipersensibilidad, temblor muscular, tetania. Yace tumbado con convulsiones tetánicas, ruidos cardíacos fuertes, frecuencia rápida. Casos subagudos pueden ponerse en pie. (13)

Serología: Magnesio sérico bajo, inferior a 1.2 mg/dl (0.5 mmol/L). (13)

Incluso tras la inyección IV de compuestos con magnesio. La respuesta en un caso grave puede tardar 30 minutos. Mucho más lenta que la respuesta al calcio en la fiebre de leche. (13)

2.2.12.2.-Hipopotasemia aguda

Vacas en posparto tratada con soflupredona. Postrada, débil, flácida, incapaz de mantener la cabeza levantada del suelo. Arritmia cardíaca. Potasio bajo, inferior a 2.3 mEq. Cloruro potásico IV y oral. (13)

2.2.12.3.-Toxemia grave (peritonitis difusa aguda, mastitis coliforme)

Se presenta solo esporádicamente. La mastitis es la causa más común cuando la higiene es mala. Peritonitis debida a perforación del retículo por cuerpo extraño, ruptura de útero o vagina. (13)

Se presenta decúbito, depresión a coma, somnolencia, nariz seca, hipotermia, estasis intestinal, FC superior a 100 lpm pueden emitir gruñidos. Examinar la glándula mamaria. Examinar el abdomen en busca de enfermedad abdominal. Leucopenia profunda. El calcio sérico puede ser tan bajo como 7-8 mg/dl (1.75-2.0 mmol/L). Examinar la leche (CMT). (13)

Requiere terapia de apoyo frente a la toxemia y el shock. La respuesta es mala y temporal. El pronóstico es malo. Puede fallecer si se trata con sales de calcio o magnesio. (13)

2.2.12.4.-Parálisis obstétrica materna (POM)

Parto difícil prolongado. terneras y vacas jóvenes o partos largos con tracción excesiva. Alegre, alerta, come, bebe, defeca, trata de ponerse de pie y casi no puede hacerlo o se cae. Movimientos del rumen normales. Normal la CPK puede elevarse si existe gran lesión muscular. Nula a los tratamientos clínicos. Necesidad de sostén mediante cabestrillo de cadera o cuidados en paja profunda con movimientos frecuentes. Si no se recupera al tercer día, el pronóstico puede ser muy desfavorable. (13)

2.2.12.5.-Síndrome de la vaca gorda

Vacas lecheras gordas, a finales de la gestación o en el momento del parto. Alguna causa predisponente precipita la enfermedad en los animales gordos. Peso corporal excesivo, anorexia, apatía, depresión decúbito y simula una fiebre de la leche, heces blandas y escasa, cetonuria. (13)

Signos de enfermedad hepática. Se recupera si la vaca empieza a comer. Tratar con líquidos, glucosa, insulina. Proporcionar un forraje gustoso y de buena calidad. (13)

2.2.12.6.-Síndrome de la vaca echada

Más común en situaciones donde la fiebre de la leche y la tetania son comunes, y se descuida la intensidad del tratamiento; a las vacas se les deja demasiado tiempo antes de tratarlas. (13)

Moderadamente activas, comen. Temperatura ligeramente elevada, FC 80-100 lpm. Incapaz de estar de pie, pero lo intenta. (13)

Variable. El fosfato inorgánico, el potasio o la glucosa pueden ser bajos. Cetonuria, habitualmente proteinuria, CPK y AST elevadas. (13)

Respuesta variable a las de calcio, fósforo y potasio. Terapia con líquidos y provisión de una cama espesa, y es necesario cambiarlas cada hora. (13)

2.2.12.7.-Lesiones físicas

Ruptura del gastrocnemio. Luxación de cadera, etc. Secuelas esporádicas de la fiebre de la leche, a las que pueden contribuir la osteoporosis, la superficie resbaladiza del terreno o una estimulación demasiado precoz para levantarlas. (13)

Como en la POM con ruptura del gastrocnemio, el corvejón permanece sobre el suelo cuando se levanta. Excesiva movilidad lateral de las extremidades con

luxación de cadera. Aumento de la CPK y AST. Tratamiento de sostén, cama espesa y giros frecuente. (13)

2.2.13.- Lesiones anatómicas por hipocalcemia

La hipocalcemia tiene que ser diagnosticada ante mortem, ya que no hay lesiones o cambios histopatológicos a la necropsia en el animal afectado. La orina de la vaca muestra por hipocalcemia tendrá bajas concentraciones de calcio, pero eso no es evidencia suficiente para hacer un diagnóstico. Y las muestras de sangre post mortem no pueden ser usadas para análisis bioquímicos. (13)

No tiene nada característico. En el órgano genital se observa hemorragia, excoriaciones, involuciones incompletas de la matriz y presencia, en la misma, de un líquido achocolatado, rojizo o amarillento e inodoro, como consecuencia del parto. De las alteraciones accidentales pueden citarse roturas musculares, deglución desviada de alimentos en las vías respiratorias y neumonías por cuerpos extraños y excepcionalmente, fracturas óseas. (13)

2.2.14.- Tratamiento

El tratamiento está dirigido a restablecer los niveles de calcio sérico, tan pronto como sea posible, para evitar lesión muscular y nerviosa, y decúbito.

En caso de que la fiebre de la leche este empezando y pueda ser tratado con administración de calcio vía ruta de lenta absorción como la vía oral o subcutánea. Por ejemplo el calcio administrado subcutáneamente se absorbe gradualmente durante un periodo de varias horas. El ritmo de absorción depende en el grado de perfusión periférica, por lo tanto puede no ser efectivo en animales deshidratados. (14)

Las soluciones que contiene glucosa nunca deben administrarse de forma subcutánea, y que en ocasiones destruyen el tejido, formando abscesos y/o desprendimiento en el sitio de inyección. (14)

La fiebre de la leche se trata con 8 a 10 g por vía IV de Ca. (14)

El calcio administrado en forma oral también se absorbe gradualmente. Una gran variedad de preparación de sales de calcio está disponible. Estas contienen entre 25 y 100 g de calcio en forma cloruro de calcio o propionato de calcio. Estos trabajan incrementando rápidamente el calcio en el intestino a una gran concentración que una pequeña cantidad se absorbe pasivamente. Ejemplo 4 g de calcio serán absorbidos y entraran en el torrente sanguíneo de una vaca que se le da una solución oral que contiene 50 g de cloruro de calcio. El cloruro de calcio causa también una rápida y compensada acidosis metabólica, la cual mejora el mecanismo homeostático de calcio en el propio animal. Sin embargo, dosis altas o repetidas de cloruro de calcio ocasionan acidosis metabólica no compensada. El cloruro de calcio es también irritante y puede causar úlceras en la boca, esófago, estómago y abomaso de algunas vacas. (14)

Los animales que estén en una fase avanzada de la fiebre de la leche requieren tratamiento inmediato con sales de calcio administrados por vía intravenosa. Debido a que estos animales están tirados, cualquier contratiempo para ponerlos de pie pueda causar daño al musculo esquelético. (14)

Es importante administrar el calcio lentamente, ya que corren el riesgo de paro cardiaco durante la infusión de calcio. (14)

Una regla general para la dosificación es 1 g de calcio por cada 45 kg de peso corporal. La mayoría de soluciones están disponibles en dosis únicas de 500 ml que contienen 8 – 11 g de calcio (14)

2.2.15.- Prevención

En la hipocalcemia hay factores de riesgo que podemos controlar, así mismo los cuidados en el manejo del animal, son puntos a tener en cuenta para evitar esta enfermedad. A continuación presentamos algunos factores para tomar en cuenta:

- Uso de sales aniónicas: estas sales le dan la concentración exacta de calcio, fósforo, magnesio y potasio además de otros elementos que regularizan la función hormonal, para que al llegar el día del parto, la vaca, no caiga por deficiencia de alguno de ellos. (14)

Evitar altas concentraciones de calcio en la dieta pre parto: en el periodo de seca (dejamos de ordeñar a la vaca, por gestación avanzada) la vaca entra en una etapa de transición, por lo cual se debe suministrar dietas con concentraciones bajas en calcio, para que de esta forma la paratiroides siga secretando paratohormona, hormona encargada de la movilización del calcio de los huesos a la sangre. Si se usan dietas altas en calcio la paratohormona no será capaz de movilizar la cantidad necesaria de calcio de los huesos a la sangre, porque usará el calcio proveniente de la dieta, esto dejará una gran deficiencia ya que el calcio de la dieta necesita ser metabolizado antes de ser usado por el animal y no tiene una disponibilidad tan rápida como el calcio que se puede movilizar de los huesos. Por lo cual la vaca caerá en un cuadro de hipocalcemia. (14)

Monitorear el consumo de Materia Seca: Sabemos que el consumo de materia seca baja el metabolismo de las vacas, además baja la producción de leche, este proceso deja libres todos los nutrientes para ser absorbidos por el feto que se está gestando y así su completo desarrollo. El consumo de alimento concentrado bajo en calcio y forraje seco es necesario para que la ubre se recupere y el ternero nazca saludable. (14)

Estar presente en el parto para evaluar una posible hipocalcemia en las vacas de tercer Parto: La presencia del médico veterinario durante los partos es de vital importancia, ya que no solo podemos ayudar a sacar el ternero. También podemos hacer una evaluación del proceso del parto y ver cómo respondió la vaca frente a él, así mismo podemos diagnosticar rápidamente un cuadro de hipocalcemia, si la vaca ha tenido un parto largo y laborioso, sobre todo el vacas que tienen más de 3 partos. (14)

2.3.- Test rápido para el diagnóstico de hipocalcemia a nivel de campo

El fundamento de este test, parte del principio por el cual el EDTA es un factor quelante (secuestrante) del calcio de la sangre. La sangre para coagular requiere necesariamente de la presencia de calcio. Sin Calcio no se desencadena la Coagulación. (15)

2.3.1.- Procedimiento:

En un tubo de ensayo enjuagado con agua destilada y seco, se vierten 0,8 ml de una solución al 0,1%. Sobre esta solución de EDTA se colocan lentamente 2,0 ml exactos de sangre recién extraída correspondiente a la vaca problema. Con un leve movimiento de inversión se mezclan la sangre con la solución de EDTA. Se deja reposar unos minutos (3 - 5 minutos). (15)

2.3.2.- Resultados e interpretación:

Si se observa la formación de un coágulo, esto es indicativo de que la vaca posee más de 1,5 milimoles de calcio por litro de sangre, dato el cual nos será de utilidad

para revalorar el diagnóstico hacia otra causa. Ej. Hiperglucemia, hipo o hipermagnesemia, hipofosfatemia. (15)

Si no se produce coagulación alguna, se considera que la vaca posee menos de 1.5 milimoles de calcio por litro de sangre, siendo esto indicativo de un cuadro de Hipocalcemia pura, debiéndose instaurar rápidamente el tratamiento con una solución balanceada de sales de calcio orgánicas por vía intravenosa y subcutánea (50 por cada vía). (15)

El test rápido junto con la evaluación clínica profesional imprescindible nos acercará a un diagnóstico presuntivo necesario para instaurar el tratamiento apropiado, la adecuada repetición del tratamiento sin provocar daño cardíaco (miocardio). (15)

2.4 Determinación cuantitativa de calcio sérico: micrométodo de Diehls Ellingboe.

2.4.1.- Fundamento

Se titula una muestra de suero diluido con una solución de etilen-diamino tetra acetato disódico, en presencia de calceína como indicador a un pH alcalino –para evitar interferencia del magnesio-. La fluorescencia inicial verde-amarillenta originada por el complejo calceína-calcio cambia a color rosa salmón no fluorescente (de calceína libre) cuando todo el calcio ha formado quelato con el EDTA. (16)

2.4.2.- Reactivos

- Solución patrón de calcio (10 mg)
- Solución de KOH 1,25 N
- Solución indicadora de calceína
- Solución de EDTA 0,02N (16)

2.4.3.- Material, equipo e instrumentación

- Cuatro tubos de ensaye de 13 x100 mm
- Pipeta Pasteur con bulbo
- Ligadura plana
- Torundas de algodón con alcohol
- Centrífuga
- Tres matraces Erlen Meyer de 25 ml
- Tres pipetas lineales de 0,2 ml (1/10)
- Dos pipetas lineales de 0,2 ml (1/100)
- Una pipeta de 2,0 ml (1/100) “microbureta”
- Una pipeta Pasteur con bulbo
- Una gradilla. (16)

2.4.4.- Técnica

- Se llena una micro bureta con solución de EDTA
- Se preparan 3 celdillas de plástico (o cápsulas de porcelana) rotuladas como B, P y D, para blanco, patrón y desconocido respectivamente para la titulación con el contenido. (16)

- Se valoran B, P y D con EDTA. La desaparición de la fluorescencia verde amarillenta y la aparición de color rosa salmón (rojo anaranjado) indican el punto final de la titulación. (16)

2.4.5.- Valor de referencia

Calcio sérico de 8,00 a 10,00 mg/dl. (16)

2.5. Otros estudios

2.5.1. Determinación de las concentraciones del calcio, fósforo, magnesio, proteínas totales, urea y glucosa en suero sanguíneo de vacas lecheras holstein mestizas en producción aparentemente sana, en el cantón Cuenca.

En la investigación realizada por Barrios, G. y Sinchi, M. en el 2 012, se determinó las concentraciones reales en cuanto se refiere a calcio, fósforo, magnesio, proteínas totales, urea y glucosa en el cantón Cuenca. Para el propósito se utilizaron 120 vacas Holstein mestizo aparentemente sanas con distintos niveles de producción. Se consideró como nivel alto a aquellas vacas cuya producción era de 12 litros/día en adelante, un nivel de producción media de 7-11 litros/día y de baja producción hasta los 6 litros/día. Las explotaciones se ubicaron en Ecuador, provincia del Azuay, cantón Cuenca, sectores Cumbe, Baños, Tarqui y Victoria del Portete; en cada uno de ellos se tomó una muestra de 30 animales considerando 10 animales para cada categoría de producción. De cada animal se obtuvo una muestra de aproximadamente 8 a 10 ml de sangre venosa de la que se separó el suero mediante centrifugación en laboratorio para posteriormente realizar la determinación de las concentraciones de calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg), proteínas totales, urea, y glucosa, mediante el método de espectrofotometría. Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva, T student y prueba

de Duncan. Los rangos de concentración sérica obtenidos fueron: En calcio 5,74 - 6,99 mg/dl para categoría de producción alta, de 8,07 - 8,31 mg/dl para la categoría de producción media, y de 6,19 - 7,53 mg/dl para la categoría de producción baja. La concentración general en fósforo es de 5,46 - 6,33 mg/dl, magnesio de 1,91 - 2,09 mg/dl, proteínas totales de 7,87 - 8,59 mg/dl, urea de 15,81 - 18,15mg/dl y glucosa de 47,75 - 52,61 mg/dl (17)

2.5.2.- Determinación de la concentración de calcio en suero por el método del arsenazo III en el analizador Olympus AU-502.

En la investigación realizada por Sotorrio, P. et all en el año 1 996, se derterminó que el arsenazo III es un indicador metalocromico químicamente estable, muy a fin al calcio (II) a pH neutro y que no se afecta por los iones magnesia. Forma un complejo arsena III – calcio de color purpura-violeta que se destruye por la adición de EDTA. Aplicamos estos principios a la determinación de la concentración de calcio en suero en el analizador multicanal Olympus AU-502I (Merck). Resultados: repetibilidad para concentraciones baja, normal y alta: intraseriales 1,11, 0,53 y 0,72 (CV%); interserial 1,78. 1,56 y 0,84 (CV%). Linealidad hasta 4,0 mmol/L. Límite de detección 0,01mmol/L. Cambio de absorbancia por mmol/L, 0,15 unidades absorbancia. Deriva y contaminación por arrastre inferiores a la repetibilidad. Comparación: a) con espectrometría de absorción atómica: n=36, a: 0,997, b: 0,008 mmol/L, r: 0,996. b) con un método de o-cresolftaleina (Merck): n=36, a=0,974, b=0,122 mmol/L, r=0,986. No hubo interferencias, de bilirrubina hasta 280 umol/L, de hemoglobina hasta 6,0 g/L, de triglicerido hasta 11,5 mmol/L, y de citrato hasta 0,8 mmol/L. En conclusión, el método es muy preciso, seguro y sensible y según los criterios de Passing y Bablok, es intercambiable con la espectrometría de absorción atómica y con un método de o-cresolftaleina, lo que junto a la estabilidad del reactivo lo hace aconsejable para uso en grandes analizadores multicanal. (18)

2.6. Variables:

En la presente investigación, se han determinado las siguientes variables:

- Sensibilidad
- Especificidad

III. MATERIALES Y METODOS

3.1.- Espacio y tiempo

3.1.1.- Espacio

El presente trabajo se realizó en el Establo “La Mocherita”, ubicado en el distrito de Moche de la provincia de Trujillo del departamento de La Libertad, situado en la parte sur-oeste del departamento, colindando con el Océano Pacífico por el oeste y con los Distritos de Trujillo y Víctor Larco por el norte, con los Distrito de Laredo por el este y con el Distrito de Salaverry por el sur. Tiene una superficie de 25,25 Km². y se encuentra ubicado entre las coordenadas geográficas 8°10'6" latitud sur y a 79°00'27" longitud oeste del meridiano terrestre.

3.1.2.- Tiempo

El presente estudio de investigación tuvo una duración de diez meses, desde febrero a noviembre de 2 015.

3.2.- Población y Muestra

3.2.1.- Población

La población de ganado bovino de la Provincia de Trujillo del departamento de La Libertad, según lo informado por el IV Censo Nacional Agropecuario es trece mil noventa y seis (13 096) bovinos de leche, carne y doble propósito

El establo la Mocherita tiene una población de 1 772 bovinos de leche de la raza Holsteín, de las cuales 648 son vacas en ordeño.

3.2.2.- Muestra

El tipo de muestreo que se realizó en la presente investigación fue un muestreo no probabilístico intencionado, ya que el tipo de investigación requirió animales con determinadas características distintivas con las que se les pudo agrupar para su evaluación. Siendo requerido un total de 40 vacas, donde se formaron dos grupos de 20 animales cada uno.

3.3.- Diseño experimental

El diseño de investigación que se utilizó en el presente trabajo fue un diseño experimental cuasi-experimental, ya que se evaluó un grupo de animales por lo menos con una característica en común entre ellos.

Se utilizaron dos grupos de vacas a los cuales se les aplicó la prueba de campo a base de EDTA, donde el primer grupo experimental (T_1) de 20 vacas tuvo diagnóstico de laboratorio positivo a hipocalcemia, y el otro grupo experimental (T_2) de 20 animales restantes tuvo diagnóstico de laboratorio negativo.

3.4.- Equipos y procedimientos

3.4.1.- Equipos

- 40 muestras de sangre (2 ml c/u)
- Un frasco EDTA (anticoagulante) 500 ml al 3%
- Cinco tubos de ensayo de vidrio con tapón
- 45 frascos de vidrio de 4 ml, con tapa de jebe
- 50 tubos recolector para hemograma
- Un frasco de agua destilada x 1 l.
- Una caja de agujas hipodérmicas N° 18 G x 1"
- Una caja de manoplas de 100 unidades
- Una caja de jeringas de 5ml x 100 unidades
- Un cooler pequeño
- Cuatro paquetes de gel de conservación de frío
- Una cámara fotográfica digital
- Una laptop.
- Diez lapiceros
- Tres correctores de tinta
- Tres tablillas
- Un millar de hoja
- Un cuaderno por 100 hojas
- Un papel Din A4 por medio millar
- 40 hemogramas de calcio sérico
- Un alquiler de moto lineal por 30 días
- Cuatro pasajes interprovinciales

- Cuatro servicios de empaste y anillado
- Un mes de servicio de Internet
- 1 200 hojas de servicio de impresión

3.4.2.- Procedimiento

Primera etapa:

La presente investigación, se motivó por la necesidad de diagnosticar una de las enfermedades metabólicas más comunes en un establo lechero; la hipocalcemia; para lo cual se recopiló información de diversas fuentes bibliográficas, obtenidas en las bibliotecas de instituciones como Universidad Alas Peruanas filial Piura y la Universidad Nacional de Piura; además, se consultó con la Dirección Regional de Agricultura Piura así como con profesionales relacionados con la ganadería lechera, entre otras bibliografías.

También consultamos a profesionales relacionados con la problemática.

Posteriormente se procedió a determinar el diseño de la investigación, el número de animales a muestrear, el diseño estadístico, los materiales a utilizar y su costo. Con los datos obtenidos se redactó el proyecto de tesis y los instrumentos necesarios para el trabajo de campo del muestreo.

Segunda etapa:

Se procedió a solicitar la autorización respectiva al administrador del establo La Mocherita, ubicado en el distrito de Moche, provincia de Trujillo del departamento

de La Libertad, para la realización del estudio de investigación, a la vez que hablamos con el médico veterinario residente del establo, para la realización del diagnóstico clínico de las vacas caídas.

Posteriormente se inició visitas diarias al establo, al corral de las vacas recién paridas, para observar si alguna de ellas ha caído. Cuando esto se presentaba, nos acercábamos con cuidado a la vaca caída y previo al diagnóstico de hipocalcemia emitido por el médico veterinario residente del establo y sobre todo antes de efectuarse el tratamiento, se procedía a llenar la ficha de registro de la vaca y realizaba la recolección de muestra de sangre fresca.

Para lo cual se procedía a sujetar suavemente al animal y con una jeringa de 5 ml y una aguja N° 18G x 1" extraía 4 ml de sangre fresca de la vena yugular externa, y los distribuía de la siguiente manera; 2 ml de esta sangre en el tubo colector sin anticoagulante (tapa roja) y 2 ml restantes en el frasco de vidrio que contenía los 0.8 ml de solución de EDTA al 0.1 %, una vez juntos solo hacíamos 5 movimientos de inversión para asegurarnos de que los 2 líquidos se mezclen bien y se homogenicen, luego lo rotulaba y lo dejamos reposar por 5 minutos, en una superficie plana, seca y protegida de la luz solar o cualquier otro factor que pueda alterar el resultado. Para su posterior lectura

Los 2 ml colocados en el tubo colector sin anticoagulante, se rotulaba y se introducía en el cooler con el refrigerante para su conservación y traslado al laboratorio particular en el cual se realizó el análisis serológico y se determinó la concentración de miligramos de calcio.

Después de 5 minutos hacíamos la lectura del tubo con EDTA. Si se observaba la formación de un coágulo era indicativo de que la vaca no tenía hipocalcemia (negativo); sin embargo, si no se producía coagulación alguna se consideraba un diagnóstico positivo a la enfermedad.

Tercera etapa:

Con los resultados obtenidos, se procedió a la consolidación de los mismos y su análisis, para lo cual utilizamos los estadígrafos de la estadística descriptiva e inferencial; procediendo con estos resultados elaboramos la discusión, conclusiones y recomendaciones correspondientes. Posteriormente, se procedió a la redacción del informe final de tesis para su presentación

3.5 Diseño estadístico

En el presente estudio se realizó el procesamiento de los datos y el análisis de los resultados mediante la estadística descriptiva, con el uso de estadígrafos de tendencia central; así mismo, se utilizó la estadística inferencial mediante ANOVA. Para ello se usó el programa Microsoft Excel del entorno Windows; el cual, mediante tablas de frecuencias, lo cual posibilitó su interpretación.

IV. RESULTADOS

1. Diagnóstico de hipocalcemia con prueba de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad.

En el estudio realizado, de las 40 vacas muestreadas, se determinó que en los 20 animales con diagnóstico clínico de hipocalcemia, todas dieron positivo a la prueba de laboratorio; así mismo, en los 20 bovinos sin la enfermedad, la totalidad de ellas dio negativo.

Cuadro 1. Diagnóstico de hipocalcemia con prueba de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015

Descripción	N	Prueba de laboratorio	
		Positivo	Negativo
Vacas con hipocalcemia	20	20	00
Vacas sin hipocalcemia	20	00	20
Total	40	20	20

2. Diagnóstico de hipocalcemia con prueba EDTA en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad.

En el estudio realizado, de las 40 vacas muestreadas, se determinó que en los 20 animales con diagnóstico clínico de hipocalcemia 17 dieron positivo a la prueba diagnóstica EDTA y 03 negativo; así mismo, en los 20 bovinos sin la enfermedad, la totalidad de ellas dio negativo.

Cuadro 2. Diagnóstico de hipocalcemia con prueba EDTA en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015

Descripción	N	Prueba diagnóstica EDTA	
		Positivo	Negativo
Vacas con hipocalcemia	20	17	03
Vacas sin hipocalcemia	20	00	20
Total	40	17	23

3. Valores de calcio sanguíneo con prueba de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad.

En el estudio realizado, de las 40 vacas muestreadas, se determinó que en los 20 animales con diagnóstico clínico de hipocalcemia se encontró un valor mínimo de calcio sanguíneo de 6,13 mg/dl y un máximo de 7,94 mg/dl; así mismo, en los 20 bovinos sin la enfermedad, el valor mínimo fue de 8,09 mg/dl y el máximo de 13,79 mg/dl.

Cuadro 3. Valores de calcio sanguíneo con prueba de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015

Descripción	N	Valor (mg/dl)	
		Mínimo	Máximo
Vacas con hipocalcemia	20	6,13	7,94
Vacas sin hipocalcemia	20	8,09	13,79
Total / promedio	40	7,11	10,87

4. Sensibilidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad.

En el estudio realizado, de las 40 vacas muestreadas, se determinó que en los 20 animales con diagnóstico clínico de hipocalcemia, todas dieron positivo a la prueba de laboratorio; así mismo, en los 20 bovinos sin la enfermedad, la totalidad de ellas dio negativo.

Cuadro 4. Sensibilidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015

Descripción	N	Resultado positivo	Porcentaje de sensibilidad
Prueba diagnóstica EDTA	20	17	85,00
Prueba de laboratorio	20	20	100,00
Total	40	37	92,50

5. Especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad.

En el estudio realizado, de las 20 vacas muestreadas con hipocalcemia, se determinó que 20 dieron negativo a la prueba diagnóstica EDTA con una especificidad del 100,00%; así mismo, en los animales sometidos a la prueba de laboratorio un total de 20 reaccionaron negativamente con un porcentaje del 100,00.

Cuadro 5. Especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015

Descripción	N	Resultado negativo	Porcentaje de especificidad
Prueba diagnóstica EDTA	20	20	100,00
Prueba de laboratorio	20	20	100,00
Total	40	40	100,00

6. ANAVA de la sensibilidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad

Los resultados del análisis de varianza la especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras, nos indican una $F = 1,588$ menor a su valor crítico de 4,41; por lo cual no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos.

Cuadro 6: ANAVA de la sensibilidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,225	1	0,225	1,588	4,41
Dentro de los grupos	2,550	18	0,142		
Total	2,775	19			

7. ANAVA de la especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad

Los resultados del análisis de varianza la especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras, nos indican una $F = 0,00$ menor a su valor crítico de 4,41; por lo cual no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos.

Cuadro 7: ANAVA de la especificidad al diagnóstico de hipocalcemia con pruebas diagnóstica EDTA y de laboratorio en vacas lecheras del distrito de Moche – La Libertad, año 2 015.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,000	1	0,000	0,000	4,41
Dentro de los grupos	0,000	18	0,000		
Total	0,000	19			

V. DISCUSIÓN

En el estudio realizado por Barrios, G. y Sinchi, M. en el año 2012, se determinó que la concentración de calcio sérico en sangre es de; 5,74 a 6,99 mg/dl para categoría de producción alta, de 8,07 a 8,31 mg/dl para la categoría de producción media, y de 6,19 a 7,53 mg/dl para la categoría de producción baja. En el presente estudio, se determinó que de las 20 vacas con diagnóstico clínico y de laboratorio positivo a hipocalcemia, que a la vez fueron sometidos a la prueba diagnóstica de campo con EDTA, obtuvimos 17 vacas positivas a la enfermedad con valores que van de 6,13 a 7,94 mg/dl de calcio en sangre.

Por lo expuesto podemos decir que encontramos resultados diferentes en nuestras investigaciones, ya que en el estudio realizado por Barrios, G. y Sinchi, M. en el 2012, la concentración de calcio sérico encontrada en sus vacas de alta producción, es menor a la concentración de calcio sérico encontrado en las nuestras, esto podría explicarse porque nuestro muestreo fue en vacas de raza Holstein puras con un tipo de alimentación propio de una crianza estabulada (concentrado) mientras que en el otro trabajo fue realizado con un mestizaje de Holstein, alimentadas al pastoreo esto le permite a estas vacas continuar con la producción a pesar de sus niveles bajos de calcio, ya que tienen genética de una segunda raza agregada. Debemos tener en cuenta que nuestras vacas muestreadas presentaron la hipocalcemia pre o post parto y no llegaron a su máximo pico de producción, pero tampoco se quedan en una producción baja por lo cual podemos denominarlo producción media, y los valores de calcio sérico encontrados en estos niveles de producción, es semejante en ambos trabajos. En ese punto encontramos una igualdad, esto confirmaría la sensibilidad de la prueba EDTA.

Asimismo, en el presente estudio, se sometieron a las 20 vacas con diagnóstico clínico y de laboratorio negativo a hipocalcemia, a la prueba diagnóstica de campo con EDTA, donde las 20 vacas dieron negativo a la enfermedad; por lo cual la

especificidad de la misma es de un 100,00%. Estos resultados comparados con el estudio realizado por Sotorrio, P. et al en el año 1996, donde la correlación entre el EDTA y el calcio en sangre fue de 0,986 y 0,996, por lo que concluyeron que el método de laboratorio que trabajo es muy preciso.

Considerando lo expuesto antes sobre la prueba diagnóstica EDTA, podemos corroborar la afinidad de reacción que existe entre la sangre y el EDTA, ya que el EDTA interactúa con la sangre bloqueando el calcio ionizado por quelación, de esta manera se lleva a cabo la formación del complejo EDTA-Calcio.

VI. CONCLUSIONES

Los resultados indican que en el establo la Mocherita – Moche, la concentración normal de calcio en sangre de vacas lecheras en ordeño post parto es de 8 mg /dl.

La prueba de campo a base de EDTA es sensible a reaccionar de manera positiva frente a un caso de vaca con hipocalcemia, si observamos que no se forma un coagulo en el frasco del test rápido de campo, por otro lado si observamos la formación de dicho coagulo en el frasco estamos frente a un resultado negativo a dicha enfermedad.

La prueba de campo a base de EDTA es específica solo para diagnosticar hipocalcemia bovina, más no otras enfermedades que cursan con vacas caídas.

En las vacas con diagnostico negativo a hipocalcemia según el resultado de calcio sérico al análisis de laboratorio, obtuvimos el mismo resultado negativo en el test rápido de campo; demostrando así su especificidad.

El rango de calcio según los valores obtenidos en las vacas positivas a la hipocalcemia bovina fue entre 6,13 mg/dl y 7,94 mg/dl.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda a las autoridades académicas y profesionales, puedan realizar la difusión del presente estudio de la prueba diagnóstica EDTA para la determinación de vacas con hipocalcemia entre los profesionales de la producción animal, estudiantes, ganaderos y público en general ligado al sector lechero; con la finalidad de que el conocimiento sea adquirido y aplicado por los interesados.

Se recomienda a los médicos veterinarios que ejercen el campo de la sanidad y producción de animales mayores (bovinos), el uso de la prueba diagnóstica EDTA, por ser de utilidad en la determinación de vacas con hipocalcemia, permitiendo una atención clínica oportuna.

Se hace necesario, con los resultados obtenidos una mayor investigación en el campo de pruebas diagnósticas de campo en vacas caídas por otros desordenes, las cuales permitirán una mayor eficiencia en la atención clínica de los animales.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. - Henry, R., Clinical Chemistry. Principles and Technics, IÓVINE Enrique; SELVA Alejandro: El laboratorio en la clínica. Tercera edición. Buenos Aires: Panamericana, 1 985.
- 2.- Cunningham J. Fisiología Veterinaria Editorial Mc Graw Hill. Mexico D.F., Mexico 1 994.
- 3.- William M. Etgen – Paul M. Reaves. Ganado lechero. Editorial LUMISA-Noriega. México, Col del valle 1 989.
- 4.- Avila, T.S. Producción Intensiva de Ganado Lechero. CECSA, México, D. F., 1 986.
- 5.- Blood y Radostits. Enfermedades Metabólicas. Medicina veterinaria. Mc-Graw-Hill Interamericana 7 edición. España, Barcelona 1 992.
- 6.- Ceballos A. Tratamiento y Prevención de la Hipocalcemia Postparto en Vacas Productoras de leche, Artículo Publicado en la Revista Despertar lechero N° 14 Octubre de 1 997.
- .
- 7.- Blood, Henderson y Radostits, Medicina Veterinaria; 6ª edición; páginas 1069 - 1081.
- 8.- José R. Lager, Manejo de las dietas aniónicas en bovinos, facultado de ciencias veterinarias – universidad de buenos aires, Argentina, Octubre 2012.

9.- De Luca L. vaca caída, laboratorios Burnet, Producción-animal.com, argentina 2 010, Acceso el 4 de diciembre del 2 014.

10. - Oetzel, GR.. Milk Fever. En Encyclopedia of Dairy Science. Volumen 2. Ed Academic Press 2 002.

11. Reinhard, RL Herst, y JP Goff, BS.MS DVM PhD. National Animal Disease Center, Ames, IOWA U.S. Departament of Agriculture. Fiebre de la leche. Hipocalcemia en bovinos (Artículo técnico). Hallado en:<http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/fiebre-leche-hipocalcemia-bovinos-t2694/165-p0.htm>.Walter Alvarez Sack y Distribuidora Schuverer – 2009. Acceso el 4 de diciembre del 2 014.

12.- Chamberlain A.T., wilkinsonJ.M, Alimentación de la vaca, editorial ACRIBIA ZARAGOZA ESPAÑA. 2 002.

13.- Radostits O. Gay C., Blood D., Hinchcliff K., Medicina Veterinaria, tratato de las Enfermedades Del Ganado bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino 9° Edicion Editorial McGraw Hill, Madrid, España 2 002.

14.- Adams Richard, Farmacología y terapéutica veterinaria. 2° Edición en Español. Editorial Acribia .S.A. Zaragoza, España 2 003.Capitulo 1 Y 4.

15- Gonzalo Carmona Solano. Test rápido de hipocalcemia a nivel de campo (artículo), hallado en; <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/foros/test-rapido-diagnostico-hipocalcemia-t9694/165-p0.htm> – 2007. Acceso el 15 de diciembre del 2 014.

16.-Universidad Veracruz. Bioquímica Clínica Especializada. Hallado en <http://bioquespecializada.files.wordpress.com/2013/02/manual-de-practicas-bioquimica-clinica-especializada.pdf>. Q.C. Claudia Arronte – 2010. Acceso el 4 de enero del 2 015.

17.- Barros, Gladys; Sinchi, Mayra. Determinación de las concentraciones de calcio, fosforo, Magnesio, Proteínas totales, urea y glucosa en suero sanguíneo de vacas lecheras Holstein Mestizas en producción aparentemente sanas, en el cantón Cuenca. Universidad Politécnica Salesiana. Hallado en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2785/1/UPS-CT002458.pdf>. Gladys Fernanda Barros Gómez y Mayra Elizabeth Sinchi Pillco – 2012. Acceso el 22 de enero del 2014.

18.- Sotorrío, P., Álvarez-Uría, J., Quirós, A., Izquierdo, J.M. Determinación de la concentración de calcio en suero por el método del arsenazo III en el analizador Olympus AU-5021. Química Clínica. Hallado en: https://www.google.com.pe/?gws_rd=ssl#q=Determinacion+de+la+concentracion+de+calcio+en+suero+por+el+metodo+del+arsenazo+III+en+el+analizador+Olympus+AU5021. P. Sotorrío, J. Álvarez-Uría, A. Quirós, J.M. Izquierdo – 1996. Acceso el 5 de febrero del 2015

ANEXOS

ANEXO N° 01

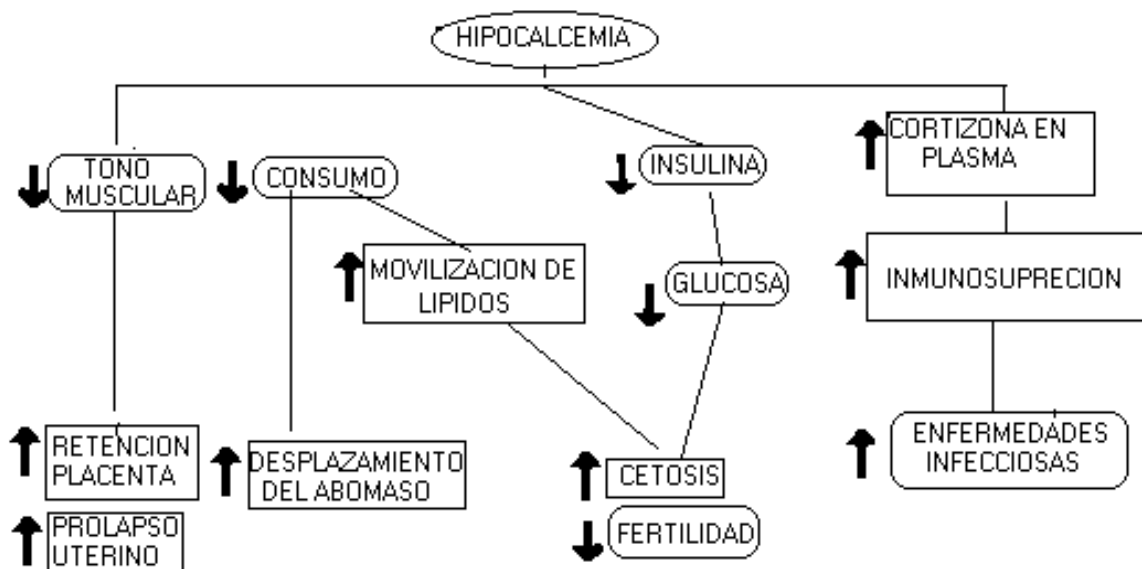
Patogenia de hipocalcemia



Fuente: Waldmann, M. Alimentación preparto.

ANEXO N° 02

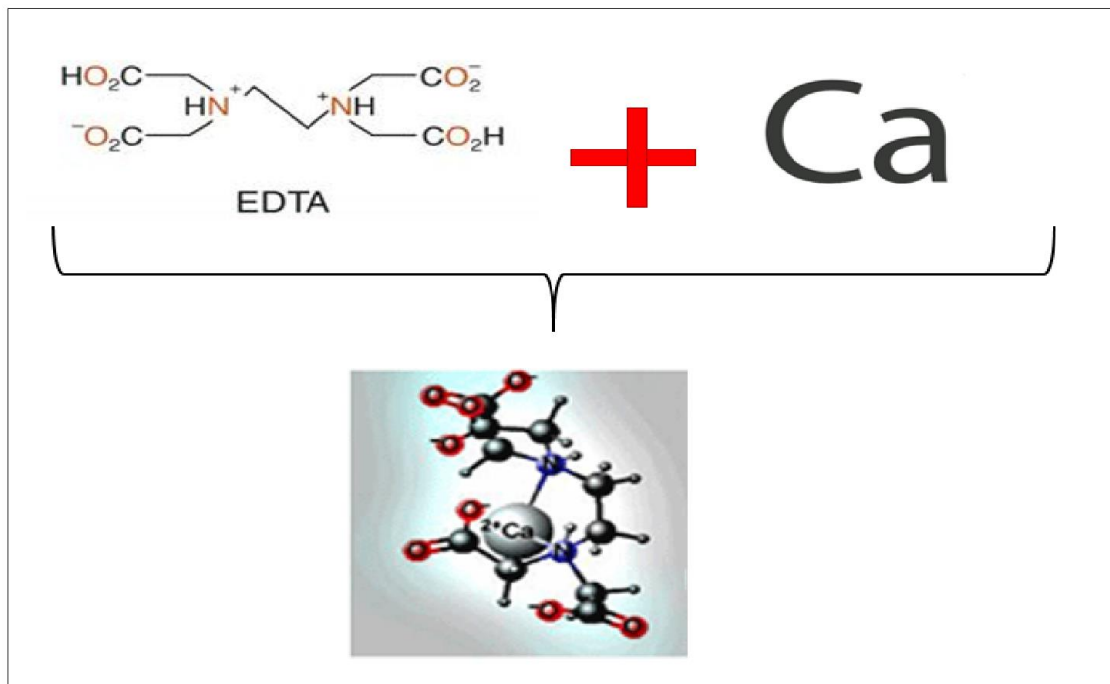
Diagnóstico de hipocalcemia



Fuente: Freddy Delgado Z., Seminario De Zootecnia 2002

ANEXO N° 03

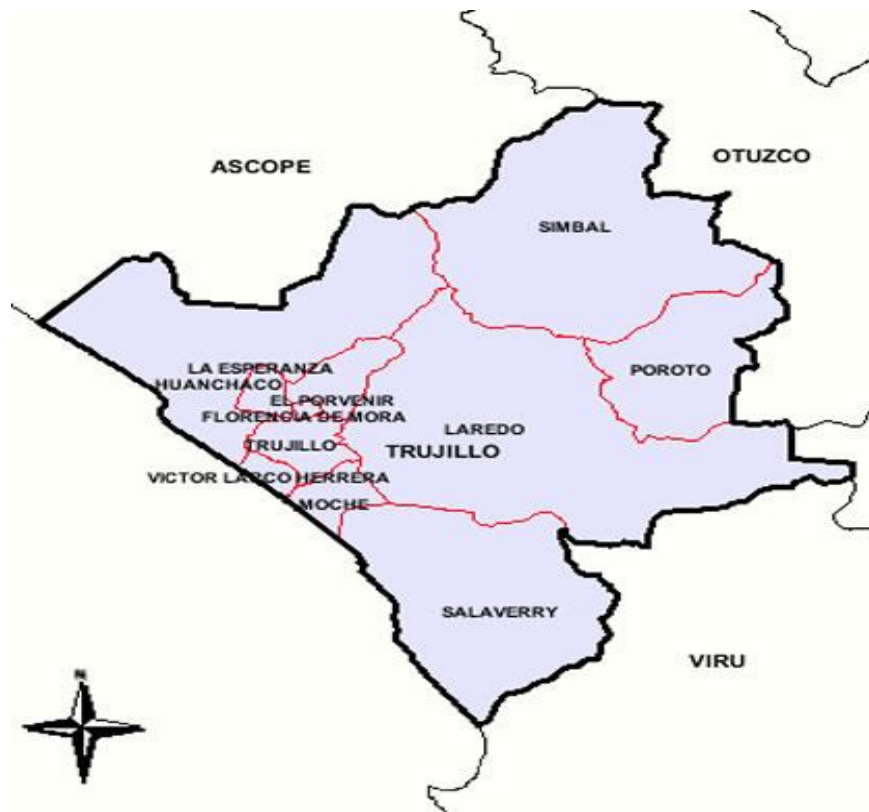
Unión del EDTA al Ca



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 04

Mapa del distrito de Moche, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad



Fuente: Municipalidad Provincial de Trujillo

ANEXO N° 5

Coordinando la dinámica del trabajo de campo, con el médico veterinario residente del establo



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 06

Vaca diagnosticada con hipocalcemia



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 07

Sujeción de la vaca, para realizar el muestreo



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 08

Extracción de sangre de la vena yugular externa



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 09

Ejecución del test de campo a base de EDTA



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 10

Recolección de sangre en el tubo sin anticoagulante



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 11

Tubos de recolección de sangre fresca, en conservación, para transportar al laboratorio



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 12

Ficha Clínica

ESTABLO “LA MOCHERITA”			
FICHA CLÍNICA			Fecha: <i>02/07/15</i> Hora: <i>12:00 pm</i>
Vaca: <i>3711</i>	Raza: <i>Holstein</i> Edad: <i>5 años aprox.</i>		
N° de parto: <i>3</i>	Peso (Kg.): <i>480 aprox.</i>		
Este parto			
Grado de dificultad Del parto	Parió sola ()	Necesito ayuda (x)	Necesito medicación y/o cesárea ()
Historia sanitaria (vaca caída)			
Enfermedades anteriores	N° de veces que padeció la enfermedad	Parto	
		Antes	Después
<i>hipoglucemia</i>	<i>1</i>		<i>X</i>
<i>Pedera (MPD)</i>	<i>1</i>	<i>X</i>	
Historia de hipocalcemia			
Etapa	Descripción	Test rápido	Resultado laboratorio
<i>2</i>	<i>Prostración, no come, no toma agua, tímpanismo</i>	<i>+</i>	<i>+</i> <i>7.18 mg</i>
<i>-</i>	<i>-</i>	<i>-</i>	<i>-</i>

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 13

Frasco de muestra del test rápido de campo de EDTA mas sangre con resultado negativo; se forma un coagulo



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 14


Frasco de muestra del test rápido de campo de EDTA mas sangre con resultado positivo; no se forma coagulo



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 15

Resultado de laboratorio

 **Laboratorio Santa Fe** CIBL
De Laboratorio...

ANÁLISIS CLÍNICOS: DE SANGRE, ORINA, HECES, SECRECIONES Y OTROS

OC: 1906011828

REPORTE DE ANALISIS


Solicitante : LUIS ALBERTO CHAVEZ RIOS
Fecha de recepción de muestra : 01-06-2015
Muestra : Sangre de vaca
Análisis solicitado : Calcio

RESULTADOS

- Método: Colorimétrico directo
- Límite de cuantificación: 2.5 mg/dl.
- Linealidad: 20 mg/dl.

Análisis	N° Vaca	Valor obtenido	Unidad
Calcio	2726	8.77	mg/dl.
Calcio	2596	7.94	mg/dl.
Calcio	3254	9.23	mg/dl.
Calcio	2672	8.11	mg/dl.
Calcio	2534	7.49	mg/dl.
Calcio	3254(II)	7.75	mg/dl.
Calcio	986	8.73	mg/dl.
Calcio	2923	7.54	mg/dl.

Trujillo, 02 de Junio del 2015



Ms. C. LUZ E. GUILLEN PINTO
MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA
CBP. 2221

www.laboratorio - santafe.com / labsantafeirl@gmail.com
A. Raymondi 330 - Trujillo - Telefax : 222015 / informes@laboratorio-santafe.com
Cel.: 94 967 6652 / #94 943 5991 / Rpm:*619 152

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 16

Tabla de resultados a Hipocalcemia según Laboratorio comparada con el test de EDTA, para Especificidad

N°	Vaca	Resultado de Laboratorio		Resultado del Test EDTA	
		mg / dl	Negativo	Positivo	Negativo
1	2726	8.77	--		--
2	2672	8.11	--		--
3	3254	9.23	--		--
4	986	8.73	--		--
5	2633	8.09	--		--
6	2683	9.4	--		--
7	2314	10.12	--		-
8	2244	10.45	--		--
9	2809	13.79	--		-
10	2793	10.12	--		--
11	2848	8.85	--		--
12	3037	9.36	--		--
13	3650	9.87	--		--
14	2477	8.36	--		--
15	2635	8.18	--		--
16	2632	8.61	--		--
17	3504	11.21	--		--
18	2692	10.52	--		--
19	2454	10.11	--		--
20	3132	11.08	--		--

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 17

Tabla comparativa de resultados a Hipocalcemia según Laboratorio y el test de EDTA, para Sensibilidad

N°	Vaca	Resultado de Laboratorio		Resultado del Test EDTA	
		Positivo	mg / dl	Positivo	Negativo
1	2596	+	7.94		--
2	914	+	7.44	+	
3	2766	+	7.07	+	
4	2492	+	7.38	+	
5	2870	+	7.8	+	
6	3136	+	7.8		--
7	2138	+	7.33	+	
8	2809	+	7.43	+	
9	3093	+	7.8		--
10	2177	+	7.33	+	
11	2618	+	7.55	+	
12	3183	+	7.51	+	
13	1363	+	7.35	+	
14	2940	+	6.56	+	
15	2831	+	7.25	+	
16	3740	+	6.13	+	
17	3711	+	7.18	+	
18	3642	+	6.39	+	
19	3363	+	6.87	+	
20	3239	+	7.26	+	

Fuente: Elaboración propia