TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS

Tesis

"Caracterización de los componentes hematológicos de la vaca lechera en su periodo de transición, en el altiplano mexicano"

Presenta

MVZ. LUIS FERNANADO PÉREZ GONZÁLEZ

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

Comité tutoral

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN (Tutor)

DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES

DR. CARLOS URBAN HÄUBI SEGURA

DRA. LETICIA ESPERANZA MEDINA ESPARZA

Aguascalientes, Ags., junio 2020

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ LUIS FERNANDO PÉREZ GONZÁLEZ** quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES HEMATOLÓGICOS DE LA VACA LECHERA EN SU PERIODO DE TRANSICIÓN, EN EL ALTIPLANO MEXICANO, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 24 de mayo de 2020

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN
Integrante del Comité Tutoral de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ LUIS FERNANDO PÉREZ GONZÁLEZ** quien realizó la tesis titulada *CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES HEMATOLÓGICOS DE LA VACA LECHERA EN SU PERIODO DE TRANSICIÓN, EN EL ALTIPLANO MEXICANO*, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 26 de mayo de 2020

Centro de Ciencias Agropecuarias

DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES
Integrante del Comité Tutoral

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, MVZ LUIS FERNANDO PÉREZ GONZÁLEZ quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES HEMATOLÓGICOS DE LA VACA LECHERA EN SU PERIODO DE TRANSICIÓN, EN EL ALTIPLANO MEXICANO, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado. Pongo lo anterior a su digna consideración y le envio un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 31 de mayo de 2020

DR. CARLOS URBAN HAUBI SEGURA
Integrante del Comité Tutoral

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ LUIS FERNANDO PÉREZ GONZÁLEZ** quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES HEMATOLÓGICOS DE LA VACA LECHERA EN SU PERIODO DE TRANSICIÓN, EN EL ALTIPLANO MEXICANO, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado. Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 02 de junio de 2020

DRA. LETICIA ESPERANZA MEDINA ESPARZA
Integrante del Comité Tutoral de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO

Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 04/06/2020

NOMBRE: LUIS FERNANDO PÉREZ GONZÁLEZ **ID** 99531

PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS CON OCPIÓN A: AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS **LGAC (del posgrado):** PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis ( ) Trabajo práctico

TITULO: CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES HEMATOLÓGICOS DE LA VACA LECHERA EN SU PERIODO DE TRANSICIÓN, EN EL ALTIPLANO MEXICANO

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Se tiene información que apoya al diagnóstico de enfermedades metabolicas del ganado lechero

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPOND SI

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

SI	El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
SI	La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
SI	Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
SI	Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
SI	Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
SI	El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
SI	Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
SI	Generó transferecia del conocimiento o tecnológica
SI	Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)

El egresado cumple con lo siguiente:

SI	Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
SI	Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias,estancia, predoctoral, etc)
SI	Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutoral, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutorpodrá liberar sólo el tutor
NA	Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
SI	Coincide con el título y objetivo registrado
SI	Tiene congruencia con cuerpos académicos
SI	Tiene el CVU del Conacyt actualizado
NO	Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados

NA	Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
NA	El estudiante es el primer autor
NA	El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
NA	En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabao de investigación.
NA	Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
NA	La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

Si X

No

FIRMAS

Elaboró:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO: **DR. ANTONIO DE JESÚS MERAZ JIMÉNEZ**

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutoral, asignado por el Decano

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO: **DR. ANTONIO DE JESÚS MERAZ JIMÉNEZ**

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO: **DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos

Elaborado por: D. Apoyo al Posg
Revisado por: D. Control Escolar/D. Gestión de Calidad.
Aprobado por: D. Control Escolar/ D. Apoyo al Posg.

Código: DO-SEE-FO-15
Actualización: 01
Emisión: 28/04/20

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de sobremanera a mi director de tesis, el **Dr. Teódulo Quezada Tristán**, por su importante participación para el desarrollo de esta investigación, dirigiéndome y aconsejándome con su amplia experiencia para hacer bien las cosas y ser un mejor profesional.

Al **Dr. Carlos Urban Häubi Segura** por compartirme su extenso conocimiento y motivándome siempre a ir más allá de lo necesario, no solo en el ámbito profesional sino en la vida diaria como persona.

Al **Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores**, la **Dra. Leticia Esperanza Medina Esparza** y al **Dr. Carlos Cruz Vázquez**, por sus atinadas participaciones en este trabajo, mejorándolo con sus observaciones y comentarios.

A mi esposa **Aurora Marisol Guzmán Vázquez**, por su apoyo, comprensión y paciencia, en los momentos difíciles siempre ha estado ahí para mí y nuestros hijos.

A la **M. en C. Lizbeth Martínez** por su apoyo y compartirme su conocimiento para el trabajo en laboratorio, durante el procesamiento de las muestras principalmente.

Al **MVZ José Manuel Hernández y su equipo de trabajo**, quienes me apoyaron en la unidad de producción, proporcionando la información necesaria y con el manejo del ganado para la toma de muestras.

A mis compañeras **Iris, Ivonne, Gina y Gaby** por hacer un excelente grupo y apoyarnos en lo necesario durante todo el proceso de la maestría.

Al **M. en C. Pecuarias, Salvador Cortés Garibay** por su amistad, apoyo y compañerismo durante el desarrollo casi paralelo de la maestría.

A la **Universidad Autónoma de Aguascalientes**, en especial al **Centro de Ciencias Agropecuarias**, al **rancho ¨Tepetatillo¨** y al **CONACYT** por proporcionar los recursos materiales y económicos necesarios para el desarrollo de esta investigación.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

DEDICATORIAS

El presente trabajo va dedicado principalmente a mi esposa **Aurora Marisol** y mis hijos **Verónica, Luis Julián y José Fernando** quienes son lo más importante en mi vida y son la principal motivación para ser mejor persona y profesionista cada día.

A mis padres **José Perez González** y **Ma Esther González Escobar**, por darme la vida, y guiarme con su ejemplo cada día a ser una persona de provecho.

A mis hermanos: **Pepe, Gris, Carlos, Esther, Mary, Javier, Lupe, Beatriz e Isabel** y sus respectivas familias, cada uno de alguna manera u otra me han apoyado y hay que seguir trabajando para que continuemos siendo una familia unida.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS vi
DEDICATORIAS vii
ÍNDICE GENERAL viii
ÍNDICE DE TABLAS xi
ÍNDICE DE FIGURAS xii
ACRÓNIMOS xiv
RESUMEN xvi
ABSTRACT xviii
INTRODUCCIÓN 1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 3
JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA 5
1. ANTECEDENTES 6
1.1 LA GANADERÍA LECHERA A NIVEL MUNDIAL 6
1.2 LA GANADERÍA LECHERA MEXICANA 7
1.3 LA GANADERÍA LECHERA EN AGUASCALIENTES 8
1.4 EL CICLO PRODUCTIVO DE LA VACA LECHERA 9
1.5 EL PERIPARTO EN LAS VACAS LECHERAS 10
1.5.1 Enfermedades del periparto en vacas lecheras 11
1.5.2 Principales trastornos metabólicos de las vacas lecheras 11
1.5.3 Principales enfermedades infecciosas de las vacas lecheras durante el periparto 14
1.5.4 El estrés (parto) y la función inmune 18
1.6 HEMATOLOGÍA EN EL BOVINO 20
1.6.1 Composición de la sangre bovina 22
1.6.2 Hematopoyesis 23
1.6.3 Eritropoyesis 24
1.6.4 Granulopoyesis 26
1.6.5 Trombopoyesis 32
1.6.6 Hemograma 33
1.6.7 Frotis sanguíneo (diferencial) 33
2. HIPÓTESIS 35

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

3. OBJETIVOS 36
3.1 OBJETIVO GENERAL 36
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES 36
4. MATERIALES Y MÉTODOS 37
4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO 37
4.2 SELECCIÓN DE LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN 37
4.2.1 Características de la unidad de producción 37
4.2.1.1 *Instalaciones* 38
4.2.1.2 *Manejo Zootécnico* 38
4.2.1.3 *Alimentación* 38
4.2.1.4 *Registros* 39
4.2.1.5 *Manejo a las vacas en periparto* 39
4.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS VACAS A MUESTREAR 40
4.4 OBTENCIÓN DE MUESTRA 40
4.4.1 Obtención de muestras de sangre 40
4.4.2 Manejo de la muestra 41
4.5 TÉCNICAS DE LABORATORIO 41
4.5.1 Análisis hematológico 41
4.5.2 Frotis sanguíneo (diferencial) 42
4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO 43
5. RESULTADOS 44
5.1 RESULTADOS DEL ANALIZADOR AUTOMÁTICO 44
5.1.1 Hematocrito 45
5.1.2 Hemoglobina 46
5.1.3 MCHC 47
5.1.4 Leucocitos totales 48
5.1.5 Granulocitos absolutos 49
5.1.6 Porcentaje de granulocitos totales 50
5.1.7 Linfocitos y monocitos (agranulocitos) absolutos 51
5.1.8 Porcentaje de linfocitos-monocitos (agranulocitos) totales 52
5.1.9 Plaquetas 53
5.2.1 Eosinófilos 54

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2.3 Neutrófilos Segmentados 56
5.2.4 Linfocitos 57
5.2.5 Monocitos 58
6. DISCUSIÓN 59
6.1 SERIE ROJA 59
6.2 SERIE BLANCA 61
6.3 PLAQUETAS 65
7. CONCLUSIONES 66
8. BIBLIOGRAFÍA 67
9. ANEXOS 79
Anexo 1 Metodología para la obtención de la muestra de sangre de le vena coccígea media de las vacas: 79
Anexo 2 Metodología para el procesamiento de la muestra de sangre: 79
Anexo 3 Técnica para evaluación del frotis sanguíneo. 81

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Valores de referencia hematológicos del bovino (Posadas, 2013). 21

Tabla 2 Ingredientes y composición química de las dietas utilizadas en el periodo de transición durante el estudio (preparto y postparto). Fuente: Elaboración propia. 39

Tabla 3 Resultados del Analizador Automático 44

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Principales países productores de leche en el mundo, 2018 (miles de toneladas) (Fuente: SIAP, 2018) 7
Figura 2 Producción anual en México de los últimos siete años y expectativa para 2018. (Fuente: SIAP, 2017). 8
Figura 3 La curva de lactancia, de consumo de materia seca y de ganancia de peso de la vaca lechera en su ciclo productivo, (Fuente: Thorup, et al., 2018). 10
Figura 4 Proceso de la Eritropoyesis, (Fuente: Alberts et al., 2002) 24
Figura 5 Proceso de la Granulopoyesis, (Fuente: Alberts et al., 2002). 27
Figura 6 Técnica para realización del frotis sanguíneo 43
Figura 7. Porcentaje de hematocrito de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 45
Figura 8. Cantidad de hemoglobina (g/dL) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 46
Figura 9. (MCHC) Concentración de hemoglobina corpuscular media (g/dL) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 47
Figura 10. Cantidad leucocitos totales ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 48
Figura 11. Cantidad granulocitos ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 49
Figura 12. Porcentaje de granulocitos del total de leucocitos en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 50
Figura 13. Cantidad linfocitos y monocitos ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 51
Figura 14. Porcentaje de linfocitos-monocitos (agranulocitos) del total de leucocitos en sangre, de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 52
Figura 15. Cantidad plaquetas ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 53
Figura 16. Cantidad eosinófilos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 54
Figura 17. Cantidad neutrófilos banda (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 55
Figura 18. Cantidad neutrófilos segmentados (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 56
Figura 19. Cantidad linfocitos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 57
Figura 20. Cantidad monocitos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey. 58

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ACRÓNIMOS

SIGLAS O ABREVIATURAS	SIGNIFICADO
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANDEVA	Análisis de Varianza
ARN	Ácido ribonucleico
ASVCP	Sociedad Americana de Patología Clínica Veterinaria
CD34	Antígeno de diferenciación 34
CFU-E	Unidades formadoras de colonias eritroides
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CO_2	Dióxido de carbono
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
G	Gramo
G-CSF	Factor estimulante de colonias
GMPs	Progenitores de granulocitos/monocitos
H^+	Hidrogenión, protón, o ion de hidrógeno
H_2O	Agua
H_2CO_3	Ácido carbónico
HCO_3-	Bicarbonato
HIF	Factores inducibles por hipoxia
HSC	Células pluripotenciales hematopoyéticas
IFCC-CLSI	Federación Internacional de Química - Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio
IGF-1	Factores de crecimiento a la insulina

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ILS	Interleucinas
IL3	Interleucina 3
IL5	Interleucina 5
IgE	Inmunoglobulina E
IR	Intervalo de Referencia
LSD	Diferencia Significativa Mínima
MEPs	Megacariocitos/progenitores eritroides
mL	mililitros
Mm	milímetros
NK	Células asesinas naturales
OxiHb	Oxihemoglobina
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PaO_2	Presión parcial de Oxígeno
QALS	Comité de garantía de calidad y normas de laboratorio
Rpm	Revoluciones por minuto
SCF	Factor de células madre
T3	Triyodotironina
TfR1	Receptor-1 Transferrina
TPO	Trombopoyetina
VCM	Volumen Corpuscular medio
±	Signo matemático. Más-menos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

RESUMEN

En el ciclo productivo de la vaca lechera, hay un periodo crítico el cual va desde 21 días antes del parto hasta 21 días posparto, llamado periodo de transición, éste es un período de cambios drásticos para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias que le demanda la producción. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar su producción y de evitar enfermedades metabólicas e infecciosas, además la disminución (~ 30%) del consumo de alimento previo al parto, promueve la movilización de reservas corporales, es decir, el balance energético negativo. Aunado, existe fragilidad en la actividad del sistema inmune de la vaca que está fuertemente deprimido alrededor del parto. Se ha descrito una disminución transitoria importante de leucocitos después del parto causado por un importante pasaje de neutrófilos hacia el tracto reproductivo. La capacidad de los leucocitos para responder y la producción de anticuerpos se ve también afectada alrededor del parto. El objetivo del presente estudio fue caracterizar el perfil hematológico de la vaca lechera del altiplano mexicano, durante de su periodo de transición.

Se eligieron 64 vacas multíparas, de raza Holstein, sanas, en el periodo de transición. Se seleccionaron de una unidad de producción lechera, con sistema intensivo totalmente estabulado, Se obtuvo sangre de la vena coccígea, para realizar biometría hemática y frotis sanguíneo para recuento diferencial de leucocitos. Se obtuvieron 5 muestras por vaca: a los -21, -10, 0, 10 y 21 días en relación al parto, las muestras se analizaron en laboratorio mediante un analizador automático, los datos obtenidos se analizaron estadísticamente bajo una prueba de normalidad; así como análisis de varianza para modelos lineares generales (SAS, 1999).

Se obtuvieron los valores hematológicos, los cuales, presentaron diferencias significativas con respecto a la fecha de muestreo, caracterizando los diversos componentes sanguíneos de la vaca en este periodo, el principal analito que presentó cambios durante el periodo de muestra fueron los leucocitos, donde se encontró al tiempo del parto una leucocitosis, los leucocitos totales absolutos en sangre fueron de (12.5 $x10^9$/L), siendo éste, el periodo de muestreo con un recuento más alto que los demás ($P<0.05$) y rebasando los rangos normales (12.0 $x10^9$/L), posterior al parto se observa una disminución (9.6 $x10^9$/L)

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad, dicha leucocitosis se caracterizó por una neutrofilia marcada y una linfopenia.

Se pudo concluir que existen variaciones significativas de los valores hematológicos de la vaca lechera durante su periodo de transición, aunque los datos no salieron de los rangos de normalidad establecidos, éstos se acercaron a los límites, y esto las hace vulnerables a cualquier otro factor para desencadenar una enfermedad.

Palabras clave: vaca lechera, periodo de transición, hematología, inmunodepresión, leucocitosis.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ABSTRACT

In the productive cycle of the dairy cow, there is a critical period which goes from 21 days before calving to 21 days postpartum, called the transition period, this is a period of drastic changes for the cow, which must adapt its metabolism to the strong demands of production. The balance with which the cow solves this process will depend on the ability to maximize its production and to avoid metabolic and infectious diseases, in addition, the decrease (~ 30%) in feed consumption prior to calving, promotes the mobilization of body reserves, that is, the negative energy balance. In addition, there is fragility in the activity of the cow's immune system, which is strongly depressed around calving. A significant transient decrease in leukocytes has been reported after delivery caused by a significant passage of neutrophils into the reproductive tract. The ability of leukocytes to respond and the production of antibodies is also affected around delivery. The objective of the present study was to characterize the hematological profile of the dairy cow of the Mexican highlands, during its transition period.

64 healthy multiparous cows, Holstein breed, were chosen in the transition period. It was from a dairy production unit, with a fully confinement intensive system. Blood was obtained from the coccygeal vein, to perform hematic biometry and blood smears for differential leukocyte count. 5 samples were obtained per cow: at -21, -10, 0, 10 and 21 days in relation to calving, the samples were analyzed in the laboratory using an automatic analyzer, the data obtained was statistically analyzed under a normality test; as well as analysis of variance for general linear models (SAS, 1999).

Hematological values were obtained, which differences with respect to the sampling date, characterizing the different components of the cow in this period, the main analysis showing the changes during the sample period were leukocytes, where the time of delivery a leukocytosis, the absolute total leukocytes in blood were (12.5 $x10^9$ / L), this being the sampling period with a higher count than the others ($P < 0.05$) and surpassing the established normal limits (12.0 $x10^9$ / L), after delivery, a decrease is observed (9.6 $x10^9$ / L) as the days progress, although without leaving the established normal ranges, said leukocytosis is characterized by marked neutrophilia and lymphopenia.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

It could be concluded that there are significant variations in the hematological values of the dairy cow during its transition period, although the data did not leave the established normal ranges, these approached the limits, and this makes them vulnerable to any other factor to trigger an illness.

Key words: dairy cow, transition period, hematology, immunosuppression, leukocytosis.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

INTRODUCCIÓN

En el ciclo productivo de las vacas lecheras, existe un periodo crítico, el cual comprende desde 21 días antes del parto hasta 21 días después de éste, a este periodo se le denomina periodo de periparto o periodo de transición.

De tal manera, la transición del estado preñada no lactante al no preñado lactante, es un período de cambios drásticos para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias que le demanda la producción. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción y la calidad de la leche, de evitar enfermedades metabólicas e infecciosas y asegurar la siguiente preñez. La mejora nutricional, la selección genética y el manejo animal han aumentado la producción de leche en las últimas décadas, y esto se asocia a una disminución del desempeño reproductivo y al aumento de problemas sanitarios.

Es por eso que, el conflicto en el desempeño productivo contra el reproductivo está en gran parte condicionado por el manejo diferencial en el que se puede incidir especialmente durante el período de transición. A la alta demanda metabólica por producción de leche se le suma la disminución (~ 30%) del consumo previo al parto, que promueve la movilización de reservas corporales, es decir, el balance energético negativo. Los cambios que ocurren durante este período están directamente relacionados a los procesos de adaptación del sistema digestivo a la alimentación que recibirán luego del parto y del metabolismo.

Aunado a lo anterior, la fragilidad del organismo se refleja en la actividad del sistema inmune de la vaca que está fuertemente deprimida alrededor del parto. Se ha descrito una disminución transitoria importante de células de defensa después del parto causado por un importante pasaje de neutrófilos hacia el tracto reproductivo. La capacidad de los linfocitos para responder y la producción de anticuerpos se ve también afectada alrededor del parto, se ha reportado una disminución dramática de los niveles séricos totales de inmunoglobulinas G y M en el período entre la semana 8 previa al parto y la cuarta semana postparto.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Aún se desconoce el mecanismo exacto que determina la depresión del sistema inmunológico en el periparto, pero se acepta que factores endócrinos y nutricionales estarían fuertemente involucrados. Estos hallazgos podrían explicar la alta incidencia de enfermedades infecciosas durante este período.

La medición de la biometría hemática o hemograma, es una herramienta de gran utilidad para la clínica de los rumiantes. Consiste en un examen sanguíneo de ayuda diagnóstica que en la evaluación clínica permite tomar decisiones profilácticas y curativas en el cual se obtiene un recuento de tres series celulares sanguíneas principalmente, la serie Eritrocitaria (Serie Roja o Glóbulos Rojos), la serie Leucocitaria (Serie Blanca o Glóbulos Blancos) y la serie Plaquetaria. Este examen nos proporciona una idea muy confiable de la salud o enfermedad de los animales, por ello es de gran importancia saber realizar una adecuada interpretación de los valores encontrados en dicho estudio, además de tener valores de referencia específicos para el tipo de animales, ya que estos pueden variar de acuerdo a la raza, sistema de producción, manejo etc. También influye la zona o región donde se encuentren estos animales, ya que variaciones de altitud, clima y manejo afectan la fisiología en general, por lo que se pueden obtener valores diferentes.

Actualmente no se cuenta con los parámetros normales de las vacas lecheras de la raza Holstein en sistema de producción intensivo específicamente en este periodo de transición, en nuestra zona del altiplano centro mexicano.

Por lo tanto, en este estudio se caracterizó el perfil hematológico del ganado lechero en esta zona que sirven como parámetros de referencia para este tipo de ganado.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La creciente demanda de alimentos en el mundo y la globalización, ha exigido a las unidades de producción primaria a ser más eficientes cada vez para mantener la rentabilidad. La producción lechera no es la excepción, por lo que las vacas especializadas en producción de leche se ven más exigidas cada vez hacia una mayor producción, lo que conlleva mayores cuidados de manejo, alimentación, selección genética y sanidad (Meikle et al., 2013). Por ende, implica mayores riesgos en algunas etapas de mayor importancia en la producción.

El periparto es un periodo crítico del ciclo de producción de las vacas lecheras, donde la fisiología de la vaca sufre grandes cambios (Wankhade et al., 2017), uno de los sistemas más afectados en este periodo es el inmunitario. Autores hablan de una depresión del sistema inmune alrededor del parto (Herr et al., 2011), lo que puede facilitar la presentación de enfermedades infecciosas (metritis, retención de placenta, mastitis) y metabólicas (cetosis, desplazamiento de abomaso, hipocalcemia) características del periparto (Grummer, 1995).

Aunque existe información acerca de las alteraciones producidas en las vacas lecheras en periodo de transición, es importante que los ganaderos tomen en cuenta que la comprobación de los parámetros fisiológicos es esencial para el control del estado de salud de los rebaños lecheros.

Las pruebas hematológicas son la prueba de diagnóstico sanguíneo más popular ya que determina el recuento sanguíneo, que incluye los recuentos de eritrocitos, leucocitos y trombocitos, así como el contenido de hemoglobina, el valor del hematocrito y los parámetros de los glóbulos rojos. El contenido de los componentes de la sangre varía dependiendo de los factores que inhiben o estimulan el sistema circulatorio. La función principal de la sangre es transportar nutrientes y recoger desechos del medio extracelular para mantener el equilibrio fisiológico del cuerpo, mientras que los indicadores hematológicos de la sangre son el principal determinante de la adaptación ambiental de los animales y, por tanto, su bienestar.

En el periodo alrededor del parto las vacas pasan por un periodo de inmunodepresión, las causas no son claras (Meglia et al., 2017), (Vangroenweghe et al.,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

2005), algunos autores refieren que la causa es debido a la presencia de altos niveles de cortisol consecuencia del estrés que se genera en este periodo, otros autores mencionan una migración de gran cantidad de los leucocitos circulantes al tracto reproductivo, algunos más se lo atribuyen al efecto de altos niveles de ciertas hormonas como los estrógenos (LeBlanc, 2008).

En México no se ha hecho suficientes estudios sobre los cambios de los valores hematológicos, principalmente leucocitos, de las vacas lecheras altas productoras en este periodo del periparto, que mencionen hasta cierto punto, los cambios en los valores que se pueden considerar como normales y en qué punto se puede convertir en un riesgo para la vaca.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

A pesar de los avances significativos en la comprensión de la biología de las vacas de transición, se ha informado una mayor incidencia de enfermedades metabólicas e infecciosas durante la lactancia temprana (Wankhade et al., 2017). Por lo tanto, una transición sin problemas es importante para minimizar los problemas de salud y optimizar la productividad y la rentabilidad para la próxima lactancia. La identificación temprana de estas enfermedades puede ser útil para superar futuras pérdidas de producción (Van Saun, 2016).

La investigación planteada, aportará información que posteriormente puede servir como base para nuevos estudios de investigación, ya que, con los resultados obtenidos, se puede proceder a investigar cómo se puede actuar, para contrarrestar la incidencia de enfermedades que surgen en este periodo del periparto de las vacas lecheras, que causan grandes pérdidas económicas a los ganaderos y merman el bienestar animal.

Se estima que una vaca que presenta una enfermedad en el periparto, producirá en promedio un 14% menos de leche en su lactancia (LeBlanc, 2008), lo que en unidades de producción intensivas especializadas como la del estudio, que tienen en promedio producciones de 8,000 a 10,000 kg de leche por lactancia por cada vaca, esto significa una perdida aproximada de 1250 kg, cuestión que representa mermas considerables en la utilidad de la unidad de producción.

Es de gran importancia contar con valores de referencia hematológicos específicamente de este periodo de periparto, ya que se puede convertir en una rutina protocolaria en las unidades de producción lecheras, el realizar una biometría hemática a las vacas antes del parto, y detectar vacas en riesgo, así de esta manera prevenir enfermedades que pudieran presentarse posteriormente.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1. ANTECEDENTES

1.1 LA GANADERÍA LECHERA A NIVEL MUNDIAL

La leche bovina juega un papel central en la nutrición humana y es un ingrediente que se consume globalmente en diferentes formas y destinos. Las principales líneas de investigación de la industria láctea internacional se focalizan en la valorización e innovación de productos por las propiedades de algunos componentes lácteos promoviendo los aspectos saludables y terapéuticos de la leche (Bauman et al., 2006).

La producción mundial de leche fue de 833.5 millones de toneladas en 2017, un 1.4% más que en 2016. Gran parte del aumento anticipado se produjo en Asia y América, mientras que el sector se estancó en Europa y África y una declinación en Oceanía. El comercio mundial de productos lácteos aumentó un 1,3% en 2017 a 71,6 millones de toneladas (en equivalente de leche) marcando un segundo año de crecimiento modesto. A pesar del crecimiento lento de la producción de leche, la Unión Europea (UE) debe representar la mayor expansión de las exportaciones, sostenida por el aumento de las ventas de queso y leche descremada en polvo. De igual modo, mayores embarques de queso, pero también de leche en polvo descremada, impulsan las exportaciones de Estados Unidos. En contrapartida, las exportaciones de América del Sur, Oceanía, Asia y África disminuyen en 2017, reflejando principalmente las restricciones de oferta. En el lado de la demanda, Asia impulsa la expansión, con las importaciones de la región en cerca de 41 millones de toneladas, un 1.5% más que en 2016 (FAO, 2017).

Dentro de Asia, China está detrás de gran parte de ese aumento, con sus compras impulsadas por la demanda de productos lácteos de mayor valor agregado, en especial queso y leche descremada en polvo. Las importaciones aumentaron en Argelia, Australia, Rusia, México, Indonesia, Corea, Japón, Tailandia y Pakistán. Por otro lado, las importaciones disminuyeron significativamente en Brasil, Arabia Saudita, Omán, Estados Unidos, la UE, Filipinas, Egipto, Malasia, Emiratos Árabes Unidos, Cuba, Bielorrusia y Turquía (FAO, 2017).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Después de subir continuamente por nueve meses a partir de mayo de 2016, los precios internacionales de los productos lácteos disminuyeron por poco tiempo a principios de 2017, cuando el aumento de las remisiones de la UE y Estados Unidos alivió las preocupaciones con la oferta. Sin embargo, los precios aumentaron de mayo a septiembre de 2017, reflejando un aumento en los precios de la manteca y aumentos moderados en el queso y la leche en polvo entera, mientras que los precios de la leche descremada en polvo permanecieron bajos. En octubre de 2017, el índice de lácteos de la FAO disminuyó un 4%, mientras que los importadores mantuvieron sus compras paradas esperando la tendencia emergente de la disponibilidad de exportación de Oceanía (FAO, 2017).

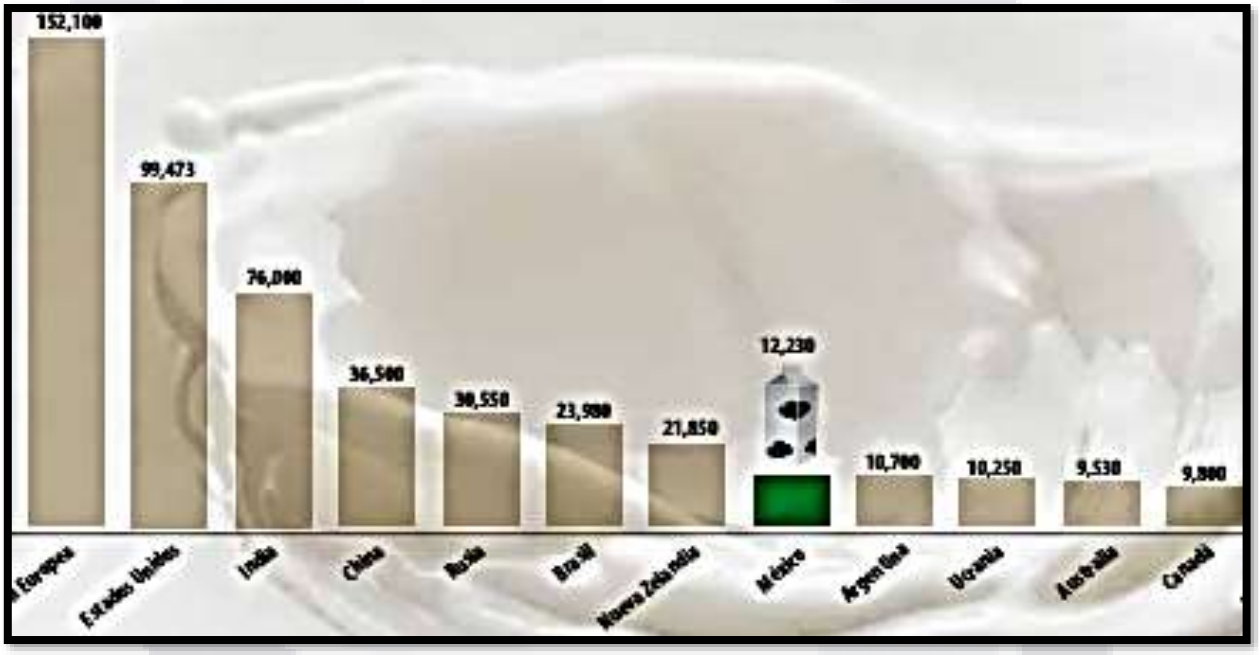

Figura 1 Principales países productores de leche en el mundo, 2018 (miles de toneladas) (Fuente: SIAP, 2018)

1.2 LA GANADERÍA LECHERA MEXICANA

En México, la actividad lechera se lleva a cabo a lo largo y ancho de todo el territorio nacional, sin embargo, los principales estados en cantidad producida de este vital alimento son: Jalisco, Coahuila, Durango y Chihuahua, ya que aportan poco más de 50% del total nacional (SIAP, 2017).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Al cierre de 2017, la producción de leche de bovino alcanzó 11 mil 807 millones de litros, es decir, 1.7% más que en el mismo periodo de 2016. A nivel nacional, en el cuarto trimestre de 2017, la producción de leche de bovino se incrementó 1.7% (199 millones 156 mil litros), destacan los aumentos en: Durango 6.6 %, Aguascalientes 6.2 %, Veracruz 5.7%, Chihuahua 4.1 %. Cabe destacar que, tres de cada cien litros que se producen en el mundo son de origen mexicano.

El consumo per cápita de leche en México, es de 97 litros por año (SIAP, 2017).

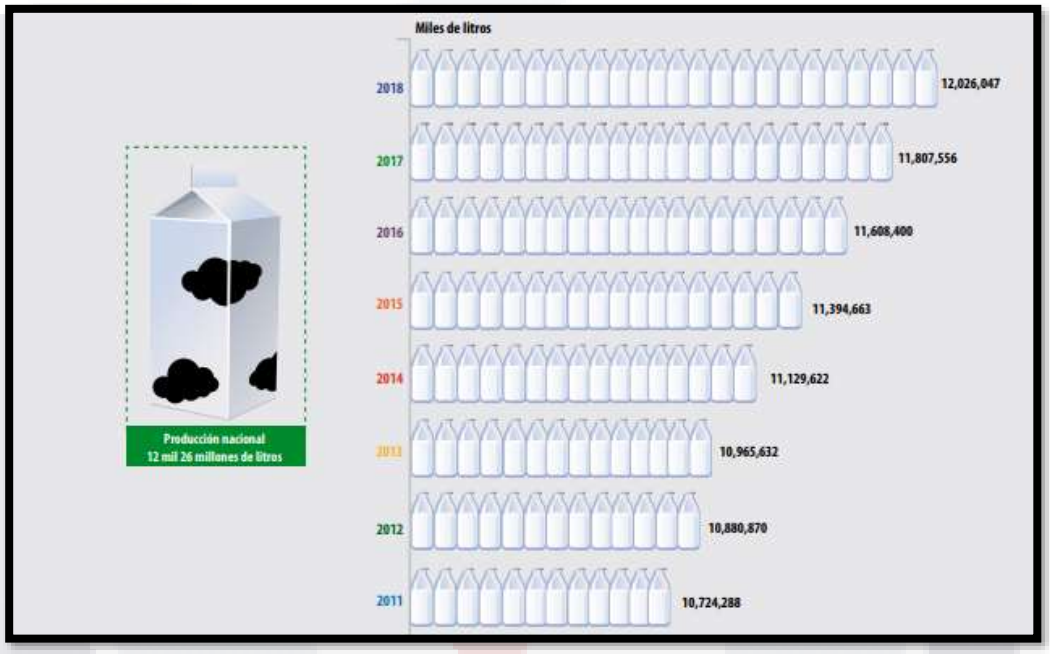

Figura 2 Producción anual en México de los últimos siete años y expectativa para 2018. (Fuente: SIAP, 2017).

1.3 LA GANADERÍA LECHERA EN AGUASCALIENTES

El estado de Aguascalientes cuenta con una población de ganado bovino especializado en producción lechera de 73,377 cabezas, con una participación en la producción nacional del 3.47% del total nacional. Es importante mencionar que el estado de Aguascalientes es una de las principales cuencas lecheras del país, aunque debido a su pequeña extensión territorial, los números productivos no representan la importancia real de esta actividad en el estado ya que, si hacemos un comparativo de la producción por kilómetro cuadrado, comparado con los otros estados, Aguascalientes encabezaría la lista con una producción

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

de 68,040 litros por kilómetro cuadrado. Sin embargo, para que se dé la producción de leche en cualquier nivel, debe llevarse a cabo un buen manejo en el ciclo productivo de las vacas, para que estas a su vez produzcan la mayor cantidad de leche posible en un tiempo determinado (SIAP, 2017).

1.4 EL CICLO PRODUCTIVO DE LA VACA LECHERA

El ciclo productivo de una hembra bovina (*vaquilla*) comienza cuando queda gestante, lo que ocurre entre los 13 a 15 meses dependiendo de la unidad de producción, aproximadamente 282 días posteriores a este evento, ocurre el parto y con ello, el inicio de la producción láctea. Una vez ocurrido el parto, el aparato reproductivo de la vaca involuciona y se regenera para almacenar una nueva gestación, que normalmente ocurre entre los 50-90 días posteriores al parto. Una vez iniciada la producción de leche, ésta va en incremento hasta los 90 días posteriores al parto, donde la vaca alcanza su máxima producción, conocido como *pico de lactancia,* después, la producción comienza a decrecer hasta el secado, que ocurre normalmente a los 10 meses después de haber parido, es decir que una vaca dura en lactancia aproximadamente 305 días. El periodo seco dura aproximadamente 60 días y termina con el parto, reiniciando así el ciclo productivo, como se muestra en la siguiente figura:

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

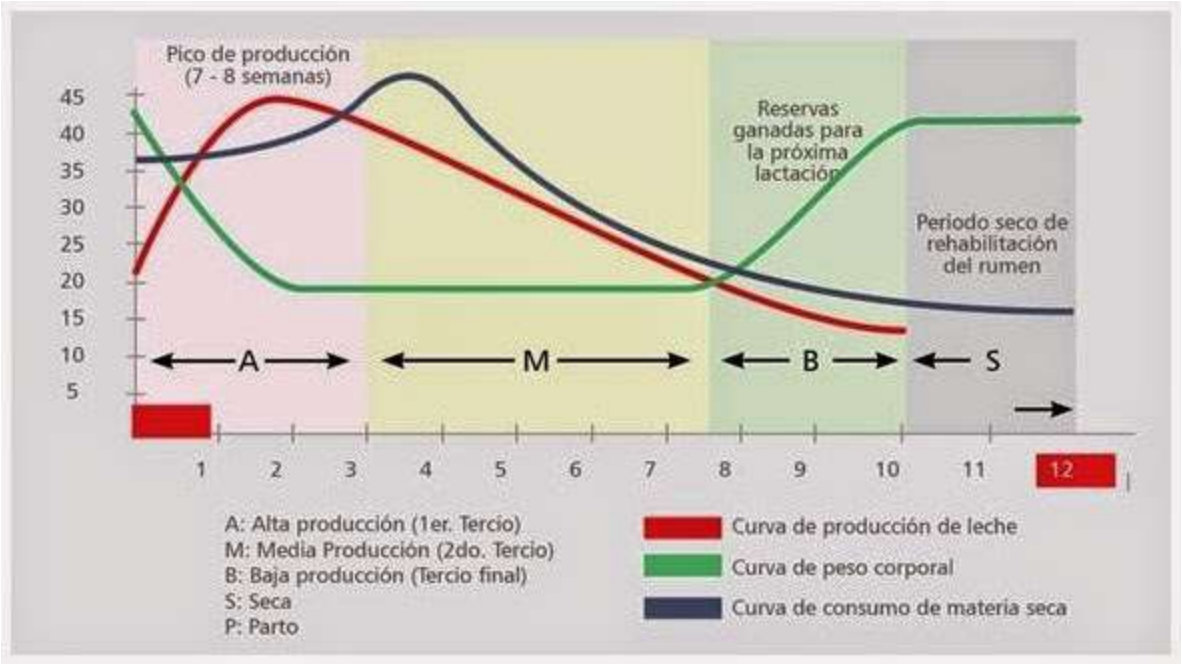

Figura 3 La curva de lactancia, de consumo de materia seca y de ganancia de peso de la vaca lechera en su ciclo productivo, (Fuente: Thorup, et al., 2018).

Cabe mencionar que existe un periodo crítico por el que pasa la vaca, que es de vital importancia poner atención, el cual comprende de 3 semanas antes del parto, hasta 3 semanas posteriores a éste, denominado el periodo de periparto (Thorup et al., 2018).

1.5 EL PERIPARTO EN LAS VACAS LECHERAS

La transición del estado gestante no lactante al no gestante lactante, es un período de cambios drásticos para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias que le demanda la producción. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción y la calidad de la leche, de evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Wankhade et al., 2017). La mejora nutricional, la selección genética y el manejo animal han aumentado la producción de leche en las últimas décadas, y esto se asocia a una disminución del desempeño reproductivo y al aumento de problemas sanitarios (Meikle et al., 2013).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.5.1 Enfermedades del periparto en vacas lecheras

1.5.2 Principales trastornos metabólicos de las vacas lecheras

El conflicto en el desempeño productivo vs el reproductivo está en gran parte condicionado por el manejo diferencial en el que se puede incidir especialmente durante el período de transición. A la alta demanda metabólica por producción de leche se le suma la disminución (~ 30%) del consumo previo al parto, que promueve la movilización de reservas corporales, es decir, el balance energético negativo. Los cambios que ocurren durante este período están directamente relacionados a los procesos de adaptación del sistema digestivo a la alimentación que recibirán luego del parto y del metabolismo (Grummer, 1995), (Wankhade et al., 2017).

Este período de subalimentación experimentado por los animales al inicio de la lactancia no solo afecta la magnitud de la respuesta residual de producción en toda la lactancia, sino que agrava el desempeño reproductivo. La mayor demanda de energía y nutrientes para la síntesis de calostro y leche junto con una menor ingesta de alimento obliga a las vacas en transición a sufrir un balance energético negativo (BEN) y deficiencias de micronutrientes. El BEN estimula a las vacas a movilizar la grasa corporal en forma de ácidos grasos no esterificados (NEFA) y la posterior acumulación de ácido beta-hidroxibutírico (BHBA) en la sangre. Es en este período que se concentran las enfermedades metabólicas que merman la producción de leche, un mal manejo del periparto a menudo conduce a enormes pérdidas económicas para los productores de leche debido a que la producción y reproducción se encuentran comprometidas (Wankhade et al., 2017). Si bien estos cambios son procesos de adaptación normales en las vacas de alto rendimiento, cuando una vaca no se adapta a este desafío metabólico, se producen varios trastornos metabólicos e infecciosos que afectan la eficiencia productiva y reproductiva más allá del período de transición (Van Saun, 2016). Una vaca que tiene un mal periodo de transición perderá de 1000 a 1800 kg de leche en su lactancia en promedio. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción de leche, evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Grummer, 1995) (Wankhade et al., 2017).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.5.2.1 Desplazamiento de abomaso

Este padecimiento es un problema cada vez más común en la ganadería lechera intensiva. Es un trastorno mecánico del cuarto compartimento gástrico de los bovinos que, generalmente, se presenta después del parto (Raizman y Santos, 2002), pero puede suceder en cualquier etapa de lactación. El problema tiene mayor incidencia en vacas altamente productoras y está condicionado por diversos factores, entre los que se encuentran:

Alimentación: En el caso de factores alimenticios el hecho de cambiar los componentes en la ración constantemente, el dar cantidades altas de carbohidratos y proteínas, forrajes en mal estado, o bien, el proporcionar ensilado de maíz, favorecen la presentación de cambios en la química ruminal, de tal forma que puede ocasionarse atonía ruminal (Posadas, 2013).

Procesos infecciosos después del parto: En lo referente a las infecciones posparto está comprobado que, por la severidad de estas afecciones, se liberan cantidades excesivas de histamina, lo que provoca acción sobre el nervio vago y, finalmente, atonía ruminal. Al continuar contrayéndose rítmicamente, el abomaso puede pasar al lado izquierdo del abdomen y quedar atrapado por el rumen sin poder regresar a su sitio, por la presencia excesiva de gas que lo mantiene en el tercio superior de la cavidad (Raizman y Santos, 2002).

1.5.2.2 Cetosis

Este problema metabólico se origina, cuando el alimento no suministra adecuada energía, y la grasa corporal se convierte en fuente importante de energía de los animales. Cuando las vacas metabolizan dicha grasa se producen ácido betahidroxibutírico (BHB), la acetona y el ácido acetoacético que en conjunto se les denomina cuerpos cetónicos El incremento de la concentración de dichos compuestos, contribuyen en la incidencia de hígado graso, cetosis clínica y desplazamiento de abomaso. Así mismo, el balance energético negativo durante el periodo de transición puede incrementar el riesgo de retención de placenta, metritis y mastitis, debido a una alteración de la función inmune (Enjalbert et al., 2001).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Se dice que no es una enfermedad en sí, sino un signo de gluconeogénesis patológica. Se caracteriza por producir cetonemia, cetonuria, cetolactea principalmente para compensar la hipoglicemia y baja del glucógeno hepático. Rara vez es mortal si es tratada a tiempo. Se conoce también como *acetonemia* (Enjalbert et al., 2001). Es más común en vacas lecheras altamente productoras, a partir de la tercera semana de lactación (Posadas, 2013).

1.5.2.3 Hipocalcemia

La prevalencia de hipocalcemia clínica o paresia posparto en vacas lecheras en Estados Unidos de América y Europa oscila entre 4% y 14%, con promedio de 9.0% (Erb y Grohn, 1988). En un estudio realizado por Ávila y col. se determinó casi la misma prevalencia en México que en Estados Unidos (Salgado Hernández et al., 2009).

Es una enfermedad metabólica, también llamada *fiebre de leche* que se presenta alrededor del parto en hembras adultas, los niveles normales de calcio en sangre de las vacas lecheras, son de entre 8.60 y 9.63 mg/dL (Stokes & Goff, 2001). La hipocalcemia es caracterizada por niveles bajos de calcio en sangre, menores de 5.0 mg/dL lo que provoca debilidad muscular generalizada y colapso circulatorio (Posadas, 2013).

Una de las causas reconocidas es la alimentación durante el periodo seco con dietas ricas en calcio, ya que aumentan la frecuencia de la enfermedad, especialmente durante las dos semanas previas al parto, probablemente por disminución de la actividad paratiroidea y aumento de actividad de la calcitonina. Dietas con una cantidad de calcio mayor a 100 g por día, durante el periodo seco, se asocian con un incremento en la incidencia de hipocalcemia. Una vaca lechera promedio, requiere solo 31 g de calcio para mantenimiento y demanda del feto (Erb y Grohn, 1988).

Las dietas preparto altas en fosforo mayor a 80 g por día, también incrementa la presencia de hipocalcemia. El fosforo dietario incrementa el fosforo sanguíneo, lo cual inhibe a las enzimas renales, por lo que las dietas altas en cationes de Na, Ca, y K tienden a inducir la *fiebre de leche* (Posadas, 2013).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

En cualquier vaca parturienta hay hipocalcemia clínica o subclínica, debida al comienzo de la lactación, se registra una disminución proporcional de los valores de calcio sérico, ionizado y total. Es claro que el retraso en la función de los mecanismos homeostáticos del calcio es la causa principal de la *fiebre de leche,* es decir, las demandas son más rápidas que la capacidad de la vaca para satisfacerlas, aun cuando sus reservas óseas estén satisfechas (Stokes y Goff, 2001).

Las vacas hipocalcemias han aumentado las concentraciones plasmáticas de cortisol, la proporción reducida de neutrófilos con actividad fagocítica y la respuesta alterada de las células mononucleares a un antígeno- estímulo activador. Esta reducción de la respuesta inmune ha vinculado la hipocalcemia a enfermedades infecciosas de origen bacteriano, como la metritis y la mastitis (Waldron, 2013), (Sordillo, 2016).

1.5.3 Principales enfermedades infecciosas de las vacas lecheras durante el periparto

La fragilidad del organismo se refleja en la actividad del sistema inmune de la vaca que está fuertemente deprimida alrededor del parto. Se ha descrito una disminución transitoria importante de células de defensa después del parto causado por un importante pasaje de neutrófilos hacia el tracto reproductivo. La capacidad de los linfocitos para responder y la producción de anticuerpos se ve también afectada alrededor del parto, por lo que se reportó una disminución dramática de los niveles séricos totales de inmunoglobulinas G y M en el período entre la semana 8 previa al parto y la cuarta semana postparto (Herr et al., 2011).

Aún se desconoce el mecanismo exacto que determina la depresión del sistema inmunológico en el periparto, pero se acepta que factores endócrinos y nutricionales estarían fuertemente involucrados. Estos hallazgos podrían explicar la alta incidencia de enfermedades infecciosas durante este período (Vangroenweghe et al., 2005).

La inmunodeficiencia que caracteriza al período de transición se puede observar en la disminución marcada de las globulinas (Sordillo, 2016) y está asociada al marcado incremento de las patologías infecciosas reproductivas, mamarias, podales u otras (Torres, 2010).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.5.3.1 Retención placentaria

Las membranas placentarias se eliminan durante las 12 horas siguientes al parto, el retraso en la eliminación de la placenta después de las 12 horas, se considera un caso patológico. La retención de placenta ocurre por la dificultad de la placenta para desprenderse de las carúnculas maternas por la falla mecánica para eliminarla; es una alteración frecuente del posparto, la cual debe ser considerada como un signo clínico de problemas de orígenes diversos, tales como los de tipo infeccioso (abortos), metabólicos (hipocalcemia, cetosis, síndrome de la vaca gorda), deficiencias nutrimentales (selenio y vitamina E) y errores de manejo (demasiada intervención en los partos y condiciones estresantes en las áreas de partos). La incidencia de la Retención de placenta (RP) varia de 5 a 15% y depende, en gran parte, del estado de salud y manejo del hato. Este padecimiento es más frecuente en ganado lechero que en el productor de carne o doble propósito. El efecto de la retención placentaria en la eficiencia reproductiva está determinado básicamente por la severidad de la metritis subsecuente, ya que 60% de las vacas con retención placentaria, desarrollan metritis. La retención placentaria provoca un aumento en el intervalo del parto a la concepción y una reducción de la fertilidad. En términos económicos, se ha determinado que la retención placentaria ocasiona importantes pérdidas, debido principalmente a los costos de los servicios médicos, el incremento de la tasa de eliminación y la prolongación del intervalo entre partos (Sheldon et al., 2008).

1.5.3.2 Metritis

Durante y después del parto, el útero es invadido por bacterias que, aunque suelen ser eliminadas por los mecanismos de defensa uterinos, algunas veces logran instalarse y producir inflamación (endometritis o metritis). Las infecciones uterinas son más frecuentes en el ganado productor de leche que en el productor de carne o doble propósito (Sordillo, 2016), lo cual obedece a las condiciones de manejo del ganado lechero, por ejemplo, el confinamiento, inapropiadas condiciones sanitarias del área de parto y mayor manipulación durante los partos (Sheldon et al., 2008). En la práctica se le llama metritis a todo proceso

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

inflamatorio del útero que se acompañe de eliminación de exudado purulento viscoso o acuoso, aunque este uso difiere de la definición correcta del término. Se debe entender por metritis al proceso inflamatorio que involucra las diferentes capas del útero (mucosa, muscular y serosa). Este padecimiento se presenta principalmente en los primeros 10 días posparto y se caracteriza clínicamente por la elevación de la temperatura, retraso de la involución uterina, eliminación de secreciones uterinas purulentas y fétidas, y en ocasiones se acompaña de septicemia y toxemia (LeBlanc, 2008).

La metritis y la endometritis afectan la eficiencia reproductiva de diversas formas: perturban la función ovárica, provocan un alargamiento del periodo del parto al primer servicio y disminuyen la fertilidad. Además, causan considerables perdidas por disminución por la producción de leche, por el costo de los tratamientos y por el menoscabo de la eficiencia reproductiva (Hernández, 2016). Las bacterias más frecuentemente encontradas en procesos inflamatorios uterinos son *Arcanobacterium pyogenes* (antes *Actinomyces pyogenes*), *Fusobacterium necrophorum, Bacteriodes melaninogenicus* y *Escherichia coli.* Las tres primeras actúan sinérgicamente. Así, *A. pyogenes* produce un factor de crecimiento para *F. necrophorum* que a su vez produce una leucotoxina, *B. melaninogenicus* elabora una sustancia que disminuye la quimiotaxis e inhibe la fagocitosis (LeBlanc, 2008).

1.5.3.3 Mastitis

La mastitis bovina se considera la enfermedad más importante de la ganadería lechera a nivel mundial debido a las grandes pérdidas económicas que ocasiona en la producción, en el valor nutricional y sanitario de la leche (Peeler et al., 2003). Esta afecta de manera constante a los rebaños lecheros del mundo y constituye la principal causa de pérdidas en la producción láctea (Hillerton et al., 2007).

La mastitis es una enfermedad multifactorial; su incidencia depende de la exposición a los patógenos, de la efectividad de mecanismos de defensa de la ubre y de la presencia de factores de riesgos medioambientales, así como de las interacciones entre estos factores (Oviedo-Boyso et al., 2007), (Ezzat Alnakip et al., 2014).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La mastitis, como su nombre lo indica, constituye una reacción inflamatoria de la glándula mamaria, que se puede asociar por factores físicos, químicos, mecánicos o infecciosos (Ezzat Alnakip et al., 2014). El 80% de los casos de mastitis son ocasionados por la invasión de microorganismos patógenos específicos en los pezones y tejidos de la ubre; los casos restantes son resultado de lesiones traumáticas, con o sin invasión secundaria de microorganismos (Taponen et al., 2006).

La enfermedad, clínicamente, puede presentarse en forma aguada, subaguda y crónica. Inicia bruscamente con cambios físicos y químicos en la leche, y la glándula se muestra aumentada de tamaño, caliente y endurecida, el animal presenta fiebre, anorexia y pérdida de peso, sin embargo, la presentación más importante es la forma subclínica (Oviedo-Boyso et al., 2007). En esta no hay evidencia de inflamación, pero se revela una infección de la glándula por el aumento en el número de células somáticas al examinar la leche, así como por los cambios en la composición de esta (Taponen et al., 2006).

La mastitis subclínica ha sido subestimada por los productores, dado que es insidiosa y poco visible en su presentación, a tal grado que generalmente no se conoce ni se comprende la importancia de este padecimiento. No obstante, la mastitis subclínica afecta negativamente el ingreso económico de los ganaderos por la disminución en la producción, así como en la calidad de la leche, pudiendo afectar gravemente la salud de quienes la consumen (Taponen et al., 2006).

De acuerdo con estudios realizados por varios autores, los hatos lecheros tienen una incidencia de mastitis subclínica de 50 a 70% y es posible que la aparición de cuadros nuevos de mastitis en una explotación sea debida a la aplicación de sistemas de higiene deficientes durante el proceso de ordeño (Blanco, 2013).

La prevalencia de mastitis subclínica en hatos ubicados en el altiplano de México ha sido estimada por varios autores y se calcula que es aproximadamente del 20.8% (Blanco, 2013).

La frecuencia de presentación de mastitis por coliformes aumenta al inicio de la lactación y disminuye conforme ésta avanza (Torres, 2010), (Blanco, 2013).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

A nivel internacional hay acuerdo en que la incidencia de mastitis es más alta durante los primeros 70 días de lactación, lo que es consistente con estudios nacionales (Torres, 2010).

1.5.4 El estrés (parto) y la función inmune

En 1930, Hans Selve fue el primer científico que introdujo el término "estrés" dentro de la comunidad médica, en su tiempo el propuso que sin tener en cuenta el estímulo, el cuerpo pueda responder de la misma manera fisiológica a un esfuerzo para mantener la homeostasis. Más de seis décadas después, el término estrés, el cual se refiere a las funciones corporales continúa siendo definido de la misma manera es la suma de todas las reacciones biológicas para estimular física, emocional o mental el disturbio de la homeostasis individual. Estos estímulos, conocidos como estresores, junto con respuestas fisiológicas en el cuerpo que reestablece la homeostasis, primariamente a través de la activación del eje hipotalámica-pituitaria adrenal (HPA) y el sistema nervioso simpático (Carroll y Forsberg, 2007).

Científicos han tenido el conocimiento por décadas que el estrés determina efectos en el sistema inmune. Sin embargo, no ha sido distinguido hasta hace recientemente los efectos divergentes en el estrés agudo comparado con estrés crónico. Los científicos han potencializando su exploración más allá de los tradicionales cursos usualmente en endocrinología e inmunología, efectos multidisciplinarios emergidos de una comunicación cruzada de elucidación entre estos sistemas lleva la delantera o mejor entendimiento de la regulación homeostática en el animal (Sordillo, 2016). El estrés de corta duración provoca la respuesta considerada todo o nada en la actividad biológica, estrictamente asociado con el comportamiento de huida o lucha, no es el estrés considerado estrictamente inmunosupresor. De hecho, el estrés puede obtener efectos bidireccionales en la función inmune, tal como en el estrés agudo puede ser inmunoestimulante, donde el estrés crónico puede ser inmunodepresor (Jacob et al., 2001).

En el animal, la respuesta del sistema inmune al estrés depende en el tipo de estrés encontrado (agudo vs crónico). En algunas instancias el estrés agudo, tal como resulta

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

desde mordeduras, punciones, cortaduras y otros desafíos en la integridad del cuerpo, hormonas de estrés son asociados con un sistema inmune recatado en una manera para prepararse para invasiones de patógenos potenciales y subsecuente infección. Sin embargo, cuando el animal experimenta estrés prolongado o crónico, el efecto de las hormonas del estrés en el sistema inmune se mueve desde eventos preparatorios a series de eventos supresores, primero a nivel celular, eventualmente a través del espectro entero del sistema inmune (Carroll y Forsberg, 2007).

Estudios previos han repostado que el estrés inducido aumenta las concentraciones de glucocorticoides y respuesta a la restricción son vinculadas con la inmunosupresión, que puede predisponer al ganado a enfermedades infecciosas. Varios estudios han reportado alteraciones en varios aspectos del sistema inmune seguido del estrés, incluido el incremento en el número de neutrófilos sanguíneos, recrecimiento en la respuesta y proliferación por estimulación miogénica de linfocitos, y un alterado patrón en las proteínas de fase aguda (Squires, 2006).

La respuesta a los corticoides se observa durante el parto y otras situaciones estresantes. Los neutrófilos de reserva son liberados y pueden aumentar de dos a cuatro veces. La respuesta leucocitaria a los estímulos inflamatorios depende de la naturaleza y la duración del estímulo (Sordillo, 2016). La respuesta a gérmenes Gram negativos está en relación con la endotoxemia producida. La recuperación de la leucopenia depende de la persistencia de la toxemia. La dilatada recuperación de la médula ósea y el lento restablecimiento (7 días) de los granulocitos en la sangre periférica es normal en la vaca (Carroll y Forsberg, 2007). La respuesta a los corticoides se observa durante situaciones estresantes, estén o no relacionadas con la enfermedad (confinamiento permanente). Los neutrófilos de reserva son liberados de la medula al torrente sanguíneo y pueden aumentar de dos a cuatro veces. Los linfocitos se reducen a menos de la mitad de su número normal. El número de linfocitos disminuye en situaciones de estrés y refleja una respuesta normal a procesos inflamatorios (Jennings, 1998). Muchos cambios neuroendocrinos se desarrollan en las vacas durante el período del periparto. Los flujos de hormonas de este periodo pueden afectar negativamente la función de las células inmunitarias. Asombrosamente, desde décadas de los 70s y 80s, varios autores mencionan que el estrógeno no tiene ningún efecto

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sobre la función de los neutrófilos bovinos durante la fase folicular del ciclo estral en vacas o después de la administración de altas dosis de estradiol a novillas (Roth et al., 1982) (Roth et al., 1983). Sin embargo, se ha reportado que las concentraciones suprafisiológicas de estradiol suprimen la función de los neutrófilos (Bodel et al., 1972), (Klebanoff, 1979). Estas altas concentraciones de estrógenos pueden ser los causantes de la inmunosupresión. Antes del parto, las concentraciones plasmáticas totales de estrógeno aumentan en la vaca, al menos 10 veces más que durante el estro (Comline et al., 1974). Además, durante la gestación, la capacidad de unión a la progesterona de los linfocitos aumenta (quizás como resultado del aumento de los niveles de estrógeno) y la concentración de progesterona en el suero durante la gestación se combina tanto, como suficiente para reducir las funciones de los linfocitos (Szekeres-Barthó et al., 1983), (Szekeres-Bartho et al., 1985). Esto plantea la posibilidad de que las sensibilidades hormonales de las células inmunitarias durante la gestación tardía puedan ser alteradas y dar lugar a cambios funcionales en las células inmunes debido al aumento de las concentraciones de estrógeno. Se alcanzan concentraciones muy altas de estrógenos y progesterona durante los últimos días de gestación en las vacas (Comline et al., 1974). Esto puede ser relacionado con la aparición de una función deficiente de los linfocitos en la vaca en el periparto, investigaciones más recientes realizadas por varios autores como (Carroll y Forsberg, 2007), (LeBlanc, 2008) y (Sordillo, 2016), corroboran esta información.

1.6 HEMATOLOGÍA EN EL BOVINO

La sangre de los bovinos es un líquido normalmente de color rojo a simple vista, que circula por las arterias y venas del cuerpo del animal y que tiene importantes funciones fisiológicas como distribuir oxígeno, nutrientes y otras sustancias a las células del organismo, así como recoger de éstas los productos de desecho. Se compone de una parte líquida o plasma y de células en suspensión: eritrocitos, leucocitos y plaquetas (Rocha, 2006).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Tabla 1 Valores de referencia hematológicos del bovino (Posadas, 2013).

Componente hematológico	(Rango normal)
Hematocrito	25.0-42.0 %
Hemoglobina	8.0-14-.0 g/dL
(MCHC) Concentración media de hemoglobina	27.0-34.9 g/dL
Leucocitos	4.0-12.0 x10^{9} /L
Granulocitos	2.0-6.0 x10^{9} /L
Linfocitos/Monocitos	3.0-7.5 x10^{9} /L
Plaquetas	175-500 x10^{9} /L

Los eritrocitos se forman en la médula ósea y tras una vida media de 120 días son destruidos y eliminados por el bazo. En cuanto a las células blancas de la sangre, los leucocitos granulosos o granulocitos se forman en la médula ósea, mientras los linfocitos se forman en el timo, en los ganglios linfáticos y en otros tejidos linfáticos. Las plaquetas se producen en la médula ósea. Todos estos componentes de la sangre se agotan o consumen cada cierto tiempo y, por tanto, se reemplazan con la misma frecuencia. Los componentes del plasma se forman en varios órganos del cuerpo, como el hígado el cual es responsable de la síntesis de seroalbúmina y fibrinógeno y que libera sustancias tan importantes como el sodio, el potasio y el calcio. Las glándulas endocrinas producen las hormonas transportadas en el plasma. Los linfocitos y las células plasmáticas sintetizan ciertas

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

proteínas, mientras otros componentes proceden de la absorción que tiene lugar en el tracto intestinal (Rocha, 2006).

La evaluación del conteo de células sanguíneas completas en rumiantes, puede ser una importante extensión del examen físico. La biometría hemática puede ser sugerida para utilizarse en un proceso de enfermedad cuando el examen clínico se encuentra vago y puede ser útil para establecer un diagnostico en muchos casos. El valor en animales individuales incrementa asociándolos con los conocimientos y experiencia, ha resultado en que el hemograma es una importante herramienta en el mantenimiento de los casos médicos de los rumiantes. Idealmente los animales deben estar calmados y bien restringidos en el momento de la colección de la muestra, para evitar aberraciones artificiales en el hemograma, y leucograma, atribuible a los esteroides endógenos o liberación de esteroides y hemólisis de una colección traumática. Depende del tamaño y la especie del animal (Jones y Allison, 2007).

La respuesta leucocitaria en rumiantes difiere de las observadas en otras especies, sobre todo en algunos cambios hematológicos específicos, algunas veces es caracterizado por neutropenia, más que por neutrofilia, hay una menor tendencia de los rumiantes para desarrollar una neutrofilia significante (Lynch et al., 2010), (Roland et al., 2014).

En condiciones basales, los factores que se elaboran en médula ósea, timo, ganglios linfáticos y bazo mantienen el control local en la producción, distribución y funcionamiento de los leucocitos. Alteraciones en alguno de éstos, podría determinar cambios en los conteos leucocitarios (Jones y Allison, 2007), (Rodríguez et al., 2014).

1.6.1 Composición de la sangre bovina

A pesar de que la sangre es un elemento constante en los organismos, su composición química cambia en función de factores como la raza del animal, su edad, estado fisiológico y alimentación, entre otros. Sin embargo, se puede hablar de una composición media: 80% agua, 18% de proteínas y 2% de carbohidratos, lípidos y sales minerales. La sangre bovina se divide en dos partes, el plasma y el paquete celular, este último constituido por los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas. En el bovino, el plasma representa del 60 al 65% del total y el paquete globular del 35 al 40% (Jones y Allison, 2007).

1.6.2 Hematopoyesis

El término hematopoyesis significa producción de la sangre y se divide en hematopoyesis primitiva y definitiva.

La primera fase de la producción de células de la sangre, se denomina hematopoyesis primitiva, que es responsable de la producción de elementos de la sangre durante las primeras etapas de la embriogénesis. La hematopoyesis primitiva tiene lugar en el saco vitelino. Las células del mesodermo llamadas hemangioblastos responsables de la vasculogénesis guardan relación con la hematopoyesis primitiva (Baron, 2003); ya que forman múltiples islotes sanguíneos (Palis y Yoder, 2001) que reconocen las células eritroides nucleadas, generando la circulación de éstos en el sistema cardiovascular (Ji et al., 2003). Estas células eritroides nucleadas guardan una fuerte relación núcleo- citoplasmática con presencia de hemoglobina en su citoplasma (Tsuji-Takayama et al., 2006). Los glóbulos rojos primitivos entran en la circulación sanguínea como células nucleadas, pero finalmente van perdiendo su núcleo en el torrente circulatorio (Kingsley et al., 2004).

La segunda etapa de la producción de células sanguíneas, denominado hematopoyesis definitiva, se deriva principalmente del alantoides, corion, placenta, arterias umbilicales, y el saco vitelino. Independientemente del origen de la síntesis de células madre hematopoyéticas (CMH), ellas migran a otros lugares donde apoyan la hematopoyesis definitiva, tal es el caso del hígado embrionario, seguido de timo embrionario, bazo fetal, y la médula ósea (en ese orden); donde se producen nichos para la llegada de las CMH (Oostendorp et al., 2002). El hígado embrionario es primer órgano colonizado (Meehan et al., 1984). Los precursores eritroides maduran y se hacen enucleados dentro de los islotes eritroides en el hígado antes de entrar en la circulación (Jones y Allison, 2007), (McGrath y Palis, 2008).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.6.3 Eritropoyesis

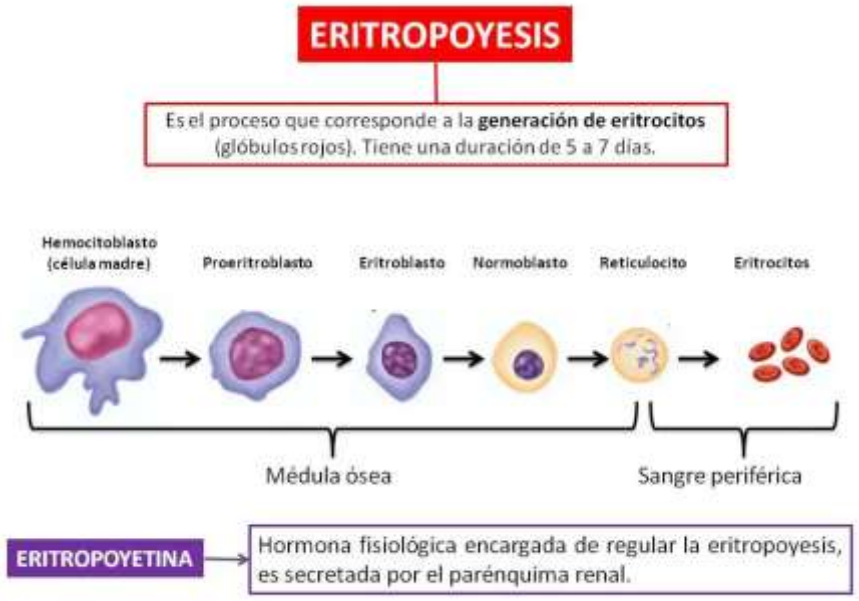

Figura 4 Proceso de la Eritropoyesis, (Fuente: Alberts et al., 2002)

1.6.3.1 Proeritroblasto

Es el primer precursor del eritrocito reconocido morfológicamente. Es una célula relativamente grande (diámetro: 12 a 20 µm), contiene un núcleo esferoidal voluminoso con uno o dos nucléolos visibles. el citoplasma exhibe una basófilia leve como consecuencia de sus ribosomas libres. Si bien es reconocible, el proeritroblasto no se identifica con facilidad en los extendidos de médula ósea de rutina. Tiene una cromatina granular, gruesa y con un nucléolo prominente, así como una pequeña cantidad de citoplasma azul oscuro (Reagan, 1999).

1.6.3.2 Eritroblasto Basófilo

Descripción general: el eritroblasto basófilo es más pequeño que el proeritroblasto (diámetro: 10 a 16 µm) en el que se origina por división mitótica. El núcleo del eritroblasto basófilo es más pequeño y cada vez más heterocromático con las mitosis sucesivas. El citoplasma exhibe una basofilia intensa por la gran cantidad de ribosomas libres que sintetizan hemoglobina. El núcleo es esférico, central y presenta basofilia por la cromatina condensada que se dispone de grumos o en forma radial. Su citoplasma es aún escaso pero un tanto más abundante que el proeritroblasto (Reagan, 1999).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.6.3.3 Eritroblasto Policromatófilo

La acumulación de hemoglobina en esta célula, cambia gradualmente la reacción tintórea del citoplasma, de modo que comienza a teñirse con la eosina. Tiene un diámetro: 8 a 12 µm, tiene un núcleo mediano, redondeado, central y azulado, la cromatina del núcleo está fuertemente condensada. Su citoplasma es abundante, azulado con matices rojizos (Reagan, 1999) (Amella, 2006).

1.6.3.4 Eritroblasto Ortocromatófilo

En esta etapa el eritroblasto ortocromático ya no es capaz de dividirse, en esta etapa se va a perder el núcleo, tiene un diámetro de 7 a 10 µm. su núcleo es pequeño y redondo, tiene tendencia a extraerse y su color es azul oscuro la cromatina está muy condensada y tiene un aspecto homogéneo. Su citoplasma es muy abundante y de color rojo con matices azules (Reagan, 1999), (Jones y Allison, 2007).

1.6.3.5 Reticulocito

Son eritrocitos sin núcleo. Cuando los reticulocitos maduran, pierden los receptores de la superficie, necesarios para adherirse a los componentes de la fibronectina y la trombospondina de la matriz extracelular, esto para facilitar su liberación de la médula ósea (Telen, 2000).

1.6.3.6 Eritrocito

Los eritrocitos, también llamados glóbulos rojos o hematíes, son el tipo más común de célula en la sangre. En los mamíferos esta célula carece de núcleo, tiene un diámetro de 6-7 µm y presentan palidez central representa un tercio de su diámetro. Su estructura es una red proteica que actúa como citoesqueleto que le confiere una alta capacidad de deformidad y flexibilidad, facilitando el paso por los capilares estrechos (Amella, 2006). Dispone de una proteína soluble transportadora de gas (hemoglobina) rodeada por una membrana celular protectora (Rebar, 2001).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La principal vía metabólica del eritrocito es la glucólisis anaeróbica; esta vía permite a la célula producir energía para mantener la estabilidad de la membrana con una mínima utilización del oxígeno. También disponen de otras vías metabólicas (comunicación del monofosfato hexosa y metahemoglobina reductasa) que protegen a la hemoglobina de la oxidación (Rebar, 2001).

La función primaria es transportar oxígeno a los tejidos a partir de la hemoglobina y la vida media del eritrocito es de 120 días (Amella, 2006).

Los cambios en la cantidad de estas células también pueden ser un signo de otros trastornos: Un alto número de hematíes, también llamada policitemia, puede ser causada por adaptación a un aumento en la altura, una mala circulación en los riñones, problemas cardiacos genéticos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), y pulmonar de la fibrosis. Un conteo más bajo de lo normal puede ser un signo de una mala nutrición, problemas con la médula ósea, la leucemia entre otras (Correa et al., 2012).

1.6.4 Granulopoyesis

Los leucocitos constituyen una población celular compuesta por diversos tipos, en los que se encuentran los polimorfonucleares, constituidos por los neutrófilos, eosinófilos y basófilos; y en mononucleares, constituidos por monocitos y linfocitos (Khan et al., 2011).

La granulopoyesis se produce principalmente en la médula ósea y en sitios extramedulares en los momentos de mayor demanda o con enfermedad de la médula ósea (Amella, 2006) y está regulada por el movimiento de las células precursoras hematopoyéticas. La diferenciación se realiza a través de cambios en la expresión de marcadores de superficie celular, receptores, factores de transcripción, y las vías de transducción de señales en los precursores hematopoyéticos. Los diversos linajes granulocíticos se originan a partir de células pluripotenciales hematopoyéticas (HSC) dentro de la médula ósea (Jones y Allison, 2007).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La granulopoyesis está regulada por citoquinas, estas se encuentran en el factor de células madre (SCF) y la mayoría de las citoquinas hematopoyéticas se producen a niveles bajos para mantener la granulopoyesis en estado estacionario (Jones y Allison, 2007).

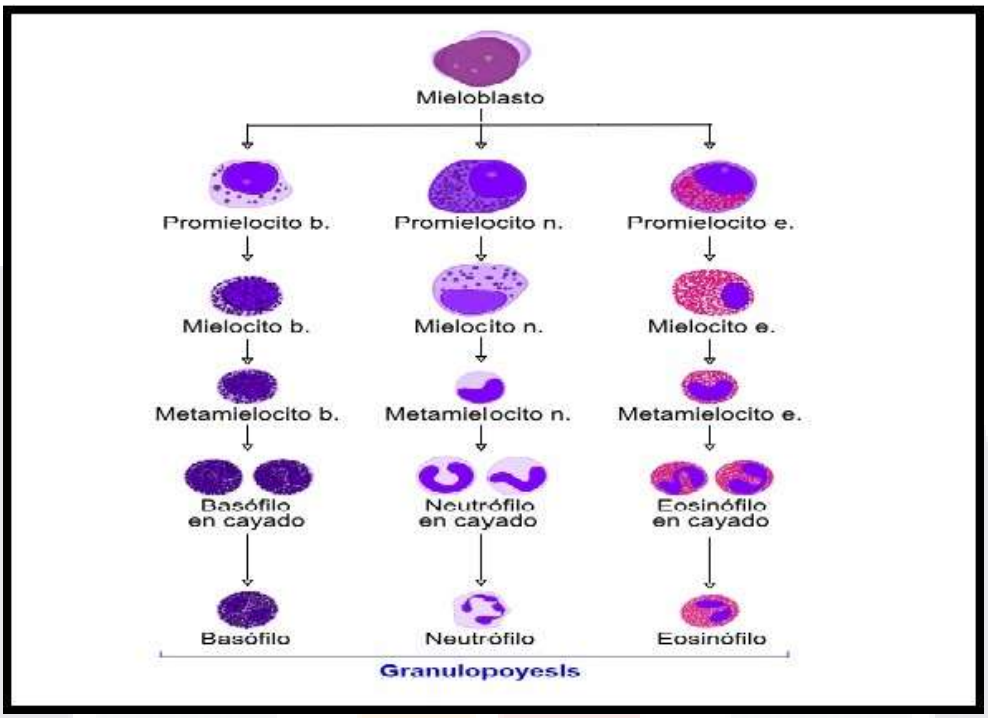

Figura 5 Proceso de la Granulopoyesis, (Fuente: Alberts et al., 2002).

1.6.4.1. *Mieloblasto*

El primer precursor de los granulocitos reconocible en la médula ósea es el mieloblasto. Es una célula grande con un núcleo redondo u oval, con una cromatina finamente granular y uno o más nucléolos prominentes (Reagan, 1999). La cantidad de citoplasma es pequeña o moderada e inicialmente el citoplasma carece de gránulos (mieloblasto Tipo I), pero un pequeño número de gránulos azurófilos comienzan a aparecer cuando el mieloblasto madura (mieloblasto Tipo II.) (Weiss et al., 2010).

1.6.4.1 Promielocito

Esta célula se parece al mieloblasto, excepto que puede no tener nucléolos y una zona perinuclear clara dentro del citoplasma (Weiss et al., 2010).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1.6.4.2 Mielocito

Es pequeño en comparación a los primeros precursores, tiene un núcleo redondo u oval o ligeramente dentado, con una cromatina granular fina y cantidad moderada de citoplasma azul. En esta fase, dejan de producirse los gránulos primarios y se forman en ese momento gránulos secundarios (Reagan, 1999).

1.6.4.3 Metamielocito

El metamielocito es pequeño en comparación al mielocito. El núcleo es en forma de riñón. La cromatina es moderadamente granular, espesa y densa en comparación a la del mielocito. El citoplasma es azul y contiene gránulos primarios y secundarios que en las fases subsiguientes del desarrollo no son fácilmente visibles al microscopio (Reagan, 1999).

Un rasgo característico es la presencia de gránulos pequeños de color rosa o purpureo (gránulos primarios) en el citoplasma (Reagan, 1999).

1.6.4.4 Linfocitos

Los linfocitos son un tipo de glóbulos blancos, una parte importante del sistema inmunológico. Son mucho más comunes en el sistema linfático que en la sangre y son el principal tipo de célula que se encuentra en la linfa, pueden defender el cuerpo contra las infecciones, ya que pueden distinguir las células del propio cuerpo de las extranjeras. Una vez que reconocen material extraño en el cuerpo, producen sustancias químicas para destruir ese material (Alberts et al., 2002).

Los linfocitos de la sangre periférica se originan tanto en la médula ósea como en el timo, derivándose aproximadamente un 70% del timo (Linfocitos T) y un 30% de la médula ósea (Linfocitos B) (Rebar, 2001), (Amella, 2006).

El tamaño del linfocito es de 9 a 12 µm. Tiene un núcleo redondo, excéntrico y de cromatina agregada. La cantidad del citoplasma es escasa, se observa en forma de anillo delgado y de color azul pálido. Los linfocitos son las células del sistema inmunitario específico (Rebar, 2001), (Alberts et al., 2002).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Un aumento en la concentración de linfocitos es generalmente un signo de una infección viral (en algún caso raro, las leucemias se encuentran a través de un recuento de linfocitos anormalmente elevado en una persona normal). Un conteo alto de linfocitos con un bajo recuento de neutrófilos podría ser causada por el linfoma. Un aumento general en el número de linfocitos se conoce como linfocitosis (Alberts et al., 2002).

Linfocitos bajos. Puede ser resultado de varios trastornos de la sangre o de otras enfermedades. Se asocia con una infección después de una cirugía o un traumatismo. Esta condición se conoce como linfopenia (Alberts et al., 2002).

Los tres tipos principales de linfocitos son los linfocitos T, los linfocitos B y las células asesinas naturales (NK) (Amella, 2006).

Linfocitos T Juegan un papel central en la inmunidad celular. Se las llama células T porque maduran en el timo, una glándula que se encuentra en el pecho. Hay varios subconjuntos de células T (Alberts et al., 2002).

Linfocitos B Son principalmente responsables de la inmunidad humoral. Hacen que los anticuerpos que puedan unirse a los patógenos, bloquear la invasión de patógenos, activar el sistema del complemento, y aumentar la destrucción de patógenos. Se mantienen dentro de la médula ósea hasta que maduran. Una vez maduros, se extienden por todo el cuerpo y se concentran en el bazo y los ganglios linfáticos (Alberts et al., 2002), (Amella, 2006).

Células asesinas naturales (NK) Son una parte del sistema inmune innato y juegan un papel importante en la defensa del huésped de ambos tumores y células infectadas de forma viral (Alberts et al., 2002).

1.6.4.5 Monocitos

Los precursores de los monocitos surgen de las células madre, que son precursores comunes para ambas líneas celulares de los granulocitos y monocitos. Los monoblastos son los primeros precursores reconocibles microscópicamente en la médula ósea, aunque sea imposible diferenciarlos de los mieloblastos. Los monoblastos dan lugar a los promonocitos. Un promonocito es una célula grande con un núcleo oval, a veces dentado con un tipo de cromatina reticular (parecida a una red). Estas células tienen cantidades pequeñas y moderadas de citoplasma azul y pueden resultar difíciles distinguirlas de los mielocitos o

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

metamielocitos neutrófilos. Los promonocitos dan origen a los monocitos. El tamaño que presenta el monocito es de 15 a 20 µm con un núcleo de forma irregular, cromatina ligeramente reticulada y a nivel del citoplasma, éste es de color azul- grisáceo. Debido al manejo de la muestra pueden producirse variaciones en la morfología normal (Rebar, 2001).

A partir de frotis con sangre fresca sin anticoagulante, los monocitos suelen ser redondos y no contienen vacuolas citoplasmáticas. El frotis a partir de sangre con EDTA, los monocitos suelen presentar los márgenes irregulares con pseudópodos y vacuolas citoplasmáticas. La evolución continua de monocito a macrófago representa la segunda línea de defensa del sistema fagocítico circulante. Las funciones específicas del macrófago incluyen: fagocitosis, regulación de la respuesta inflamatoria a partir de la liberación de mediadores inflamatorios (factores quimiotácticos, prostaglandinas, complemento, etc.), procesamiento de antígeno para su presentación a linfocitos; por lo que están implicados en iniciar la respuesta inmune y participan en la regulación de las reservas de hierro del organismo (Rebar, 2001), (Amella, 2006).

1.6.4.6 Neutrófilos en banda

Es una célula redonda y pequeña en comparación al metamielocito, su núcleo es en forma de herradura y tiene cantidades moderadas de citoplasma azul o azul claro.

El metamielocito y el neutrófilo en banda no son capaces de la división celular, pero se someten a la maduración nuclear que se caracteriza por el aumento de la condensación de la cromatina y la progresiva segmentación del núcleo (Khan et al., 2011).

1.6.4.7 Neutrófilos segmentados

El compromiso de los progenitores de granulocitos / monocitos (GMPs) para la proliferación y maduración de mieloblastos a neutrófilos polimorfonucleares, es impulsado principalmente por factor estimulante de colonias (G-CSF); y en condiciones basales el tiempo que transcurre para ir de la primera célula precursora de granulocitos a neutrófilo segmentado es de aproximadamente 6 días (Panopoulos y Watowich, 2008).

El neutrófilo segmentado es una célula pequeña con un diámetro de 12-15 µm, presenta un núcleo lobulado o parcialmente segmentado con una cromatina densa de coloración púrpura oscuro; el citoplasma es rosa pálido o azul claro, finamente granular y liso. Esta célula es la primera línea de defensa. La mayor demanda de neutrófilos es el

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

resultado de la liberación de citoquinas inflamatorias y el aumento de la producción de factor estimulante de colonias (G – CSF) (Panopoulos y Watowich, 2008).

Su función primaria es la fagocitosis y la eliminación de diferentes organismos con la fusión de los gránulos lisosomales y las vesículas fagocíticas liberando enzimas líticas y sustancias químicas capaces de destruir las bacterias. La médula ósea precisa aproximadamente de 4 a 6 días para la formación de nuevos neutrófilos y es capaz de mantener en reserva el aporte de neutrófilos maduros para 5 días (Rebar, 2001).

Los neutrófilos circulan alrededor de 10 horas en la sangre periférica encontrándose en dos compartimentos; en un compartimento circulante y otro marginal (Amella, 2006). La migración de neutrófilos hacia los tejidos es unidireccional y al azar, sobreviviendo de 1 a 4 días obteniendo posteriormente la muerte celular programada o apoptosis; aunque también pueden ser destruidos por los macrófagos residentes del bazo, hígado y médula ósea (Rebar, 2001).

1.6.4.8 Eosinófilos

Los progenitores de los eosinófilos originados por GMPs, son los mismos progenitores que dan lugar a los neutrófilos. Sin embargo, el desarrollo de los eosinófilos se produce en respuesta a un patrón diferente de factores de transcripción y citocinas. Las principales citoquinas que conducen la producción de eosinófilos son IL3, GM-CSF e IL-5. Los eosinófilos carecen de receptores para factor estimulante de colonias (G–CSF). La IL-3 y GM-CSF juegan un papel importante en las primeras etapas de la proliferación de los eosinófilos, mientras que la IL - 5 es necesaria para la diferenciación terminal, y la maduración funcional de los eosinófilos. Además de su papel en la maduración y diferenciación de eosinófilos, la IL - 5 previene la apoptosis, estimula la liberación de eosinófilos de la médula ósea y promueve la adhesión de eosinófilos a las células endoteliales (Hogan et al., 2008).

El tamaño de esta célula es de 12 a 20 µm de diámetro, parecido o ligeramente mayor que un neutrófilo. El núcleo es lobulado o parcialmente segmentado con la cromatina densa, de color púrpura oscuro y a nivel del citoplasma presenta gránulos de color naranja-rojizo de diferentes tamaños y números. Los eosinófilos constituyen el principal componente de las reacciones de hipersensibilidad sistémicas (Amella, 2006). Cuando los antígenos de parásitos o alérgenos se unen a las IgE específicas de los mastocitos, estimulan la degranulación de éstos liberando histamina que atrae a los eosinófilos, también tienen la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

capacidad fagocítica o bactericida limitada y pueden desempeñar cierto papel en la destrucción de células neoplásicas (Rebar, 2001). Es una célula con tamaño de 12 a 20 µm de diámetro, similar o ligeramente mayor a un neutrófilo. El núcleo es lobulado, segmentado y con cromatina condensa. El citoplasma es de color púrpura claro o gris con gránulos oscuros (Jones y Allison, 2007).

1.6.4.9 Basófilos

Los basófilos inmaduros pueden reconocerse en el estadio de mielocito por sus característicos gránulos secundarios. Los gránulos de los basófilos contienen histamina y heparina. La histamina liberada juega un papel primordial en la reacción de hipersensibilidad inmediata. La heparina inhibe la coagulación, con una importante función en la inflamación. Los basófilos activos sintetizan diversas citosinas que inician o modulan la respuesta inflamatoria (Rebar, 2001).

1.6.5 Trombopoyesis

Los megacariocitos se derivan del linaje megacariocitos / progenitores eritroides (MEPs). En los seres humanos y los animales domésticos, los megacariocitos se encuentran principalmente en la médula ósea (Amella, 2006).

Durante las primeras etapas del desarrollo de megacariocitos, las células progenitoras se someten a la división celular generando los megacarioblastos, que son la primera etapa morfológicamente identificable en la médula ósea, siendo células grandes con un núcleo redondo y nucléolo prominente. En esta etapa se distingue el promegacariocito, esta célula es grande, presenta núcleo multilobulado con citoplasma basófilo agranular (Reagan, 1999). En etapas posteriores del desarrollo, los megacariocitos realizan endomitosis donde se saltan el anafase, telofase, y la citocinesis, lo que resulta en división de ADN, sin división celular. Esta célula presenta núcleo multilobulado y abundante citoplasma granular (Jones y Allison, 2007). Las plaquetas se constituyen a partir del citoplasma de los megacariocitos mediante la formación de una estructura conocida como proplaqueta, esta estructura se fragmenta en múltiples plaquetas. La trombopoyetina (TPO) es un regulador humoral clave en la producción de plaquetas; se sintetiza principalmente en el hígado, en menor medida en el riñón y en las células estromales de médula ósea. Los estudios han documentado que, aunque TPO es importante para la megacariopoyesis normal, TPO también es importante para la hematopoyesis en general y desempeña un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

papel en la expansión de células madre hematopoyéticas. Los receptores de TPO se encuentran en las plaquetas, megacariocitos, y las células endoteliales vasculares (Tsuji-Takayama et al., 2006).

Las plaquetas tienen un tamaño de 2.2 a 3.7 µm de diámetro y 0.5 µm de espesor (aproximadamente una décima parte del tamaño de un eritrocito) (Rebar, 2001); es de forma discoidea sin núcleo, posee el citoplasma de color rosa con presencia ocasional de gránulos color purpura (Tizard, 2009).

1.6.6 Hemograma

El análisis hematológico no solo es relevante para diagnosticar trastornos del sistema hematológico, sino que también es útil en el diagnóstico de muchas enfermedades sistémicas. Aunque el diagnóstico de una enfermedad solo puede basarse ocasionalmente únicamente en un recuento completo de células sanguíneas (CBC), el hemograma puede aportar información valiosa en el diagnóstico, la vigilancia y la formulación de un pronóstico con respecto a la progresión futura de una enfermedad en un individuo (Roland et al., 2014).

Los instrumentos hematológicos automatizados proveen un conteo rápido de células e índices eritrocitarios potencialmente útiles, tal como el Volumen Corpuscular Medio (MCV), y la Concentración Hemoglobina Corpuscular Media (MCHC), que no son disponibles con métodos manuales. Es importante que los análisis automatizados deban ser calibrados para la especie de interés, y hacer valoración de examen microscópico para conformar los reportes del analizador, además de detectar anormalidades morfológicas que no pueden ser subestimadas (Jones y Allison, 2007).

Un único hemograma no desvela si la situación clínica está mejorando o empeorando en las leucopenias. Por lo que es necesario hacer seguimiento posterior analizando muestras subsecuentes. Es importante tener en cuenta que los hemogramas deben interpretarse teniendo en cuenta los datos de la historia clínica y los signos clínicos (Tizard, 2009).

1.6.7 Frotis sanguíneo (diferencial)

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El estudio de un frotis de sangre periférica puede proporcionar bastante información, puede utilizarse para determinar el tipo de células, su cantidad, tamaño, forma, fase de desarrollo e inclusiones celulares (Voigt, 2003). La interpretación de los frotis suele basarse en recuentos diferenciales. Los porcentajes relativos de leucocitos, derivados del recuento diferencial de leucocitos, pueden ser engañosos, particularmente cuando el leucocito en cuestión representa solo un pequeño porcentaje del total de células cuantificadas (Latimer et al., 2005).

A partir de la cuenta total de leucocitos y la cuenta relativa expresada en porcentaje se pueden efectuar deducciones clínicas, sin embargo, es más preciso expresar la cuenta diferencial total de cada tipo de leucocitos (Ezzat Alnakip et al., 2014).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

2. HIPÓTESIS

Existen variaciones significativas de los valores del hemograma de la vaca lechera (Holstein) alta productora del altiplano centro de México, durante su período de transición.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el perfil hematológico de la vaca lechera del altiplano mexicano, durante su periodo de transición.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

3.2.1 Obtener valores de la serie roja (eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio, concentración media de hemoglobina), la serie blanca (neutrófilos, linfocitos, eosinófilos y monocitos) y plaquetas.

3.2.2 Realizar el diferencial de los tipos de leucocitos mediante frotis sanguíneo.

3.2.3 Comparar los datos obtenidos de las muestras de los diferentes tiempos de muestreo entre sí.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo durante el mes de marzo del año 2018 a junio 2019 en una unidad de producción lechera[1] ubicada en los límites entre Jalisco (municipio de Lagos de Moreno) y Aguascalientes (región del municipio del Llano), cuyas coordenadas geográficas son: 21.787579, -102.003043, el clima que predomina en esta región es semiárido, los principales meses con precipitación son de junio a septiembre, con una precipitación promedio anual de 550 mm y una temperatura promedio de 18 °C (INEGI, 2019).

4.2 SELECCIÓN DE LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN

Es un estudio descriptivo longitudinal en el cual la unidad de producción seleccionada se eligió por un método de conveniencia cumpliendo con los siguientes criterios de inclusión:

- Ubicado en la región lechera de Aguascalientes-Jalisco.
- Mantenga un sistema de especializado de producción lechera totalmente estabulado.
- Brinde las facilidades necesarias para dar el seguimiento necesario a los animales seleccionados previamente.
- Contar con al menos 500 vientres de ganado de la raza Holstein.

4.2.1 Características de la unidad de producción

La unidad de producción opera bajo un sistema de productivo de leche intensivo, totalmente estabulado.

[1] Rancho El Tepetatillo S.A. de C.V.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

4.2.1.1 *Instalaciones*

El rancho cuenta con infraestructura altamente tecnificada, con corrales de tipo *Free Stall*, y de tierra con sombreadores, con comederos y bebederos en cada uno de los corrales, la sala de ordeña es de tipo *espina de pescado*, con capacidad para 16 vacas a la vez, cuenta con bascula fija, mangas de manejo y apretaderos para los manejos necesarios.

4.2.1.2 *Manejo Zootécnico*

Las vacas se encuentran lotificadas en diferentes corrales de acuerdo a su cantidad de producción y etapa fisiológica, divididas en: Frescas, altas productoras, medias productoras, bajas productoras, secas y preparto. Las vacas se ordeñan dos veces al día.

4.2.1.3 *Alimentación*

La dieta de las vacas varía de acuerdo a las necesidades de cada etapa de producción en la que se encuentran; sin embargo, se utilizan los mismos ingredientes, aunque en diferente proporción; los ingredientes más comunes son los ensilados en mayor cantidad y los concentrados en menor proporción.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Tabla 2 Ingredientes y composición química de las dietas utilizadas en el periodo de transición durante el estudio (preparto y postparto). Fuente: Elaboración propia.

Ingredientes	Preparto	Postparto
Ensilado de maíz (kg)	35.00	26.00
Alfalfa henificada (kg)	0.00	4.00
Maíz rolado (kg)	0.00	3.20
Núcleo proteico (kg)	0.00	4.20
Rastrojo de maíz (kg)	2.20	0.00
Concentrado preparto (kg)	3.50	0.00
Composición química		
Materia seca (MS) (%)	36.64	43.7
Proteína cruda (PC) (%)	11.87	16.7
Fibra detergente ácido (FDA) (%)	19.86	21.6
Fibra detergente neutro (FDN) (%)	32.94	27.8
Carbohidratos no fibrosos (CNF) (%)	44.01	45
Energía neta de lactancia (ENl) (Mcal/kg)	1.64	1.66

4.2.1.4 *Registros*

La información se recaba primeramente de forma manual en libretas de registro, posteriormente se hace la captura de ésta, en un sistema de software especializado[2].

4.2.1.5 *Manejo a las vacas en periparto*

Las vacas entran a esta etapa provenientes del corral de vacas secas (donde se les aplico la vacuna contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina, Parainfluenza 3 y Virus Sincitial Respiratorio Bovino[3]), se apartan en un corral diferente donde permanecen hasta el día del parto, para pasar posteriormente al corral de vacas frescas. Las vacas que entran a este corral de preparto deben tener aproximadamente 260 días de gestación. Al ingreso se les aplican las siguientes vacunas: La primera contiene toxoides y cultivos completos inactivados de *Clostridium chauvoei, septicum, sordellii, novyi serotipo B, tetani,*

[2] Dairy Comp 305®

[3] Virachield 6 Vac®

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

haemolyticum, perfringens tipo "A", "B", "C" y "D" en hidróxido de aluminio como adyuvante[4], la secunda vacuna contiene antígenos de Rotavirus bovino cepas Lincoln y B223, Coronavirus bovino, cepas enterotoxigénicas de E. coli con el factor de adherencia K 99 y toxoide de *C. perfringens* tipo C.[5] y por último la vacuna contra la mastitis que contiene antígenos de *Escherichia coli* inactivado, *Staphylococcus aureus* (CP8) inactivado, cepa SP 140[6].

Una vez paren las vacas se les da el siguiente tratamiento protocolario: Un Suero con gluconato de calcio por vía intravenoso, 3 tomos orales de 200 g de probióticos *(Saccharomyces cerevisiae)* uno por día, y 500 g de propilenglicol vía oral.

4.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS VACAS A MUESTREAR

Se eligieron vacas altas productoras de la raza Holstein, multíparas, aparentemente sanas, que se encuentren al término de la gestación en el periodo de preparto y se dio seguimiento durante su periodo de transición.

4.4 OBTENCIÓN DE MUESTRA

Se obtuvieron 320 muestras de 64 vacas *(Bos taurus)* multíparas, especializadas en la producción de leche, de la raza Holstein, clínicamente sanas, que se encontraban al inicio del periodo de transición. Se obtuvieron 64 muestras de las vacas cuando tenían 260 días de gestación, 64 muestras de las vacas con 270 días de gestación, 64 muestras de las vacas el día del parto, 64 muestras de las vacas con 10 días en leche y 64 muestras de vacas con 21 días en leche.

4.4.1 Obtención de muestras de sangre

[4] Clostri 10®
[5] ScourGuard®
[6] StarVac®

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La sangre venosa, se obtuvo de la vena coccígea media de las vacas, mediante la punción con Vacutainer de 1.5¨ calibre 20, y se depositó en un tubo con citrato de sodio 3.8% con capacidad de 5 mL (ver anexo).

4.4.2 Manejo de la muestra

Inmediatamente después de la toma de muestra, se rotularon los tubos con el número de la vaca correspondiente, y se registra la información manualmente en un formato determinado, posteriormente, se colocó el tubo en hielera de unicel con hielo, para lograr una temperatura de 2-7 °C, para ser transportada hasta el laboratorio donde se procesó, evitando en el traslado, la luz solar directa, golpes o agitaciones fuertes que causaran hemolisis y el contacto directo con superficies congeladas.

4.5 TÉCNICAS DE LABORATORIO

4.5.1 Análisis hematológico

Se utilizará sangre venosa fresca-almacenada a 2-7 °C durante no más de cuatro horas.

Para su procesamiento se utilizará el Kit de preparación de muestras bovinas IDEXX, para el analizador hematológico IDEXX VetAutoread, siguiendo la metodología establecida por el fabricante (ver anexo).

El funcionamiento del sistema de hematología está basado en el principio de que, sus diferentes densidades, las diversas células sanguíneas se separan en estratos definidos al ser centrifugadas en un tubo para microhematocrito. El interior del tubo está recubierto de naranja de acridina, un colorante fluorescente que tiñe diversos componentes celulares incluyendo nucleoproteínas (principalmente ADN y ARN), lipoproteínas, glicosaminas en la serie de los granulocitos. Estos componentes celulares absorben el naranja de acridina y emiten fluorescencia bajo la luz azul-violeta. Bajo esta luz, las células granulocíticas emiten fluorescencia amarillo naranja; los linfocitos y monocitos, que tienden asimilar la mayor cantidad de colorante por sus núcleos más grandes, emiten fluorescencia verde brillante y las plaquetas, amarillo pálido. Los eritrocitos normales no se ven afectados por el naranja

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

de acridina y exhiben un color rojo oscuro. La cámara óptica del sistema examina el tubo y el flotador y mide la fluorescencia emitida por las células en el tubo.

4.5.2 Frotis sanguíneo (diferencial)

Se realizó el frotis con sangre fresca para cada una de las muestras obtenidas por duplicado, de esta manera, comparar los resultados de la medición automática con los obtenidos mediante el frotis. El frotis se teñirá con la tinción de Wrigth.

Para realizar un frotis de sangre como se muestra en la figura No 4. se debe producir un frotis con leucocitos uniformemente distribuidos en la "zona de recuento ", donde las células están en una monocapa. Una gota de sangre se coloca en un extremo del portaobjetos de microscopio limpio. Se coloca un segundo portaobjetos en frente de la gota de sangre y con un ángulo de alrededor de 30 a 45 grados hacia atrás para que posteriormente pueda extenderse la gota de sangre hasta llegar a los bordes del primer portaobjetos; a medida que la gota se extiende se debe generar un deslizamiento rápidamente del segundo portaobjetos avanzado hasta el final del primer portaobjetos. Idealmente, el frotis sanguíneo debe cubrir la mitad o dos tercios del portaobjetos, y ser más grueso donde se colocó la gota haciéndose progresivamente más delgado al final del frotis. No debe de haber espacio vacío, ya que esto afectará a la distribución de células. La preparación de un frotis sanguíneo de calidad requiere de práctica, pero es una habilidad importante. El frotis sanguíneo debe estar completamente seco antes de la tinción para evitar que se distorsionen los eritrocitos. Para ello es necesario dejar los frotis por lo menos 5 a 10 minutos en reposo. Los productos de tinción como Wright se pueden utilizar para teñir el frotis de sangre una vez que esté completamente seco.

Para la realización del frotis se seguirá la siguiente metodología:

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

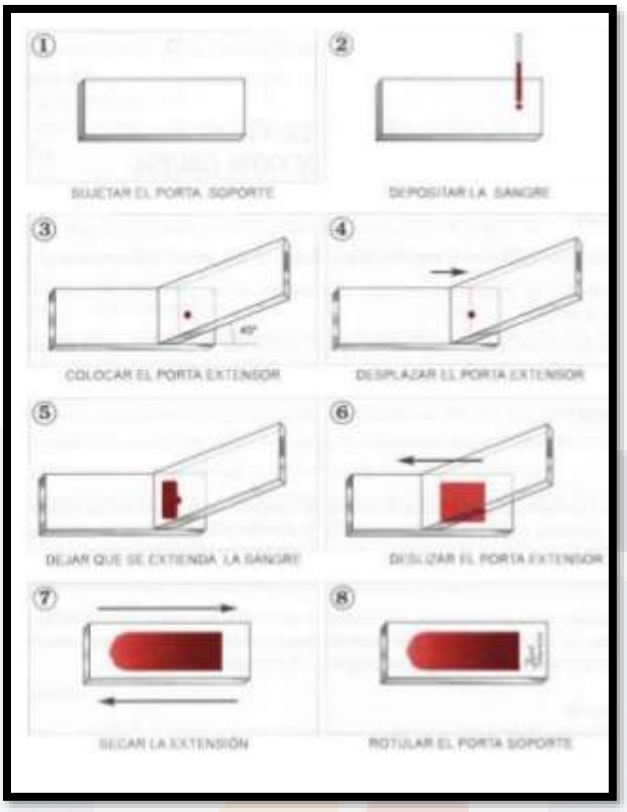

Figura 6 Técnica para realización del frotis sanguíneo

4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó la captura de los datos de las 320 muestras obtenidas en una hoja electrónica de Microsoft Excel® La información codificada se transfirió a un procesador de texto de manera que los datos pudieran ser empleados para su análisis estadístico mediante el software Statistical Analysis System ® (1999) en el cual se utilizó un Análisis de varianza (ANOVA) y una evaluación de medias por el test de comparación de medias (Tukey), con la información estadísticamente significativa ($P<0.05$) se generaron gráficas utilizando el programa GraphPad Prism 6.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5. RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DEL ANALIZADOR AUTOMÁTICO

Una vez procesadas las muestras de sangre obtenida en el analizador automático, se muestran a continuación los siguientes resultados correspondientes al periodo de transición, encontrando diferencias estadísticas significativas (P<0.05) en algunos analitos.

Tabla 3 Resultados del Analizador Automático

Variable	Días en relación al parto									
	Media	Error std	Media	Error std	Media	Error std	Media	Error std	Media	Error std
	-21		**-10**		**0**		**10**		**21**	
Hematocrito (%)	31.94 b	0.39	32.75 ba	0.40	33.32 a	0.44	30.40 c	0.46	28.18 d	0.41
Hemoglobina (g/dL)	10.57 b	0.13	10.75 ba	0.13	10.99 a	0.14	9.89 c	0.15	9.24 d	0.13
MCHC (g/dL)	33.12 a	0.12	32.82 ba	0.11	33.19 a	0.19	32.65 b	0.16	32.79 ba	0.11
Leucocitos totales ($x10^9$/L)	11.32 bac	0.58	11.92 ba	0.64	12.50 a	0.62	10.55 bc	0.55	9.67 c	0.57
Granulocitos absolutos ($x10^9$/L)	5.03 a	0.27	5.78 a	0.32	5.58 a	0.46	4.95 a	0.42	3.77 b	0.30
Granulocitos (%)	45.39 ba	1.68	50.50 a	2.15	45.34 ba	2.83	45.74 ba	2.41	39.32 b	2.04
Linfocitos monocitos absolutos ($x10^9$/L)	6.30 a	0.48	6.14 a	0.55	6.92 a	0.57	5.60 a	0.42	5.91 a	0.47
Linfocitos monocitos (%)	54.61 ba	1.68	49.55 b	2.18	54.66 ba	2.83	54.26 ba	2.41	60.66 a	2.04
Plaquetas ($x10^9$/L)	286.08 c	11.01	332.00 b	14.87	268.82 c	9.35	342.74 b	11.07	404.05 a	18.25

Error std: Error estándar, dL: decilitro

Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.1 Hematocrito

Respecto a los resultados obtenidos de hematocrito se puede observar una tendencia a incrementar el porcentaje, conforme se acerca la fecha de parto encontrando diferencia estadística (P<0.05) entre el primer y tercer muestreo, posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos (Figura 7).

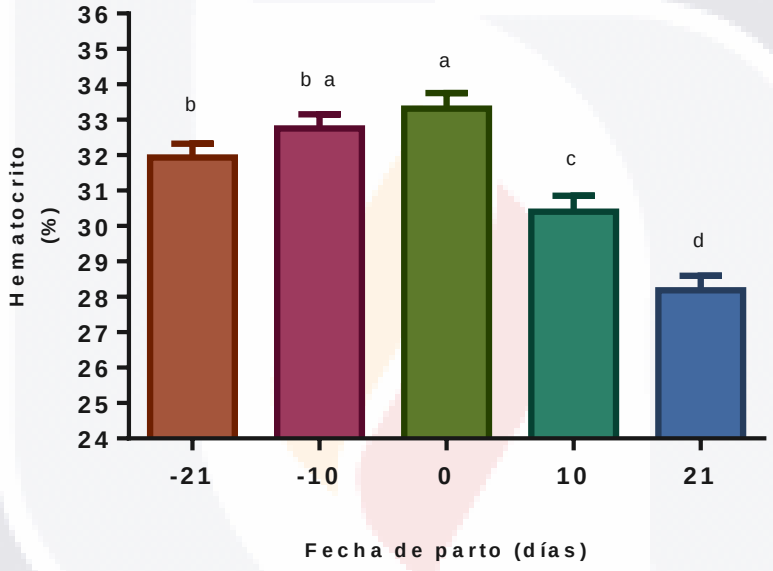

Figura 7. Porcentaje de hematocrito de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.2 Hemoglobina

La cantidad promedio de hemoglobina en sangre encontrada en los diferentes muestreos con respecto al parto, muestra un incremento conforme se acerca el día del parto, encontrando diferencia estadística (P<0.05) entre el primer y tercer muestreo, posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos (Figura 8).

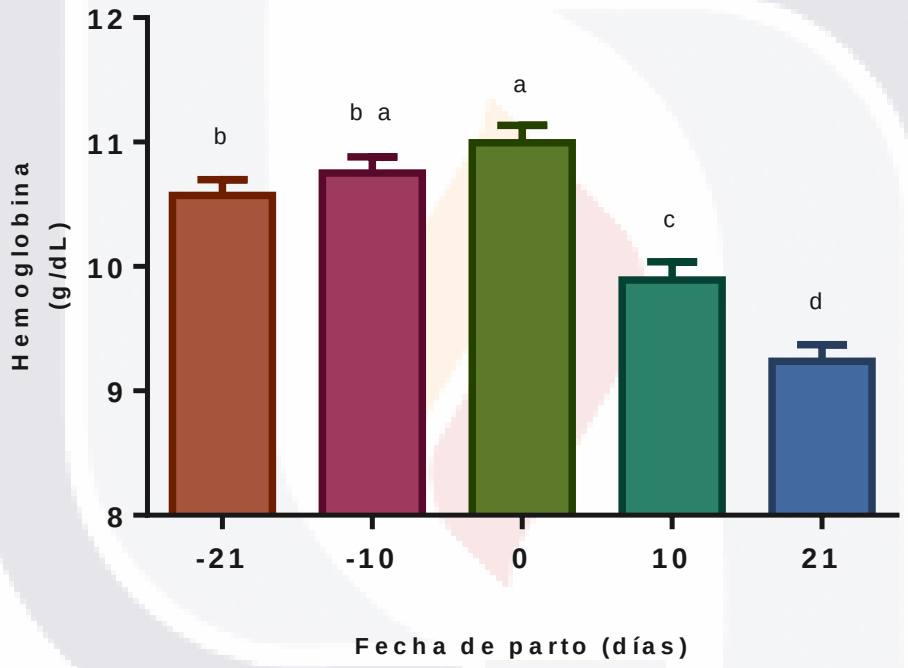

Figura 8. Cantidad de hemoglobina (g/dL) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.3 MCHC

Se observa que la MCHC, disminuye conforme se acerca el parto, pero vuelve a subir casi a los límites máximos de referencia (34.9 g/dL) el día del parto y nuevamente baja posterior a éste, encontrando diferencia estadística (P<0.05) (Figura 9).

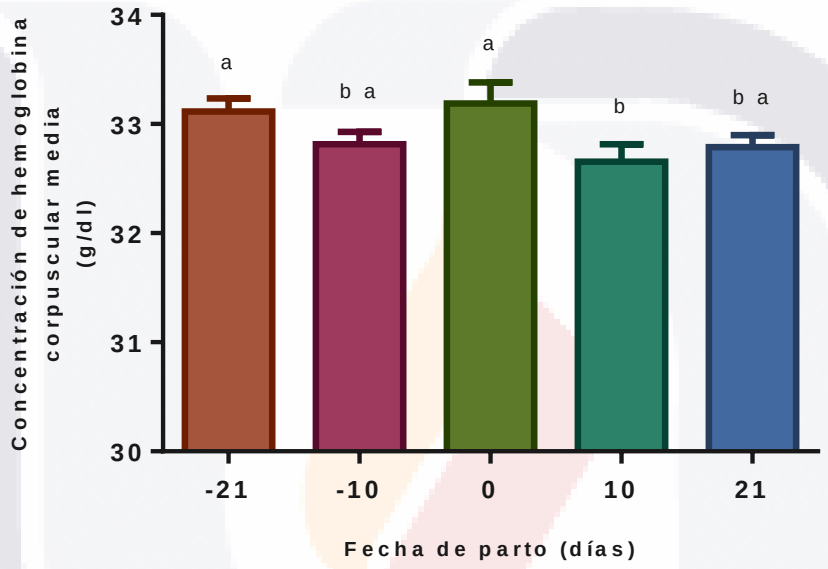

Figura 9. (MCHC) Concentración de hemoglobina corpuscular media (g/dL) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.4 Leucocitos totales

De acuerdo a los resultados obtenidos y analizados, se observa un incremento promedio en los leucocitos totales absolutos en sangre, conforme se aproxima el parto, siendo este, el periodo de muestreo con un recuento más alto que los demás ($P<0.05$) y rebasando los rangos normales establecidos (12.0 $x10^9$/L), posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos (Figura 10).

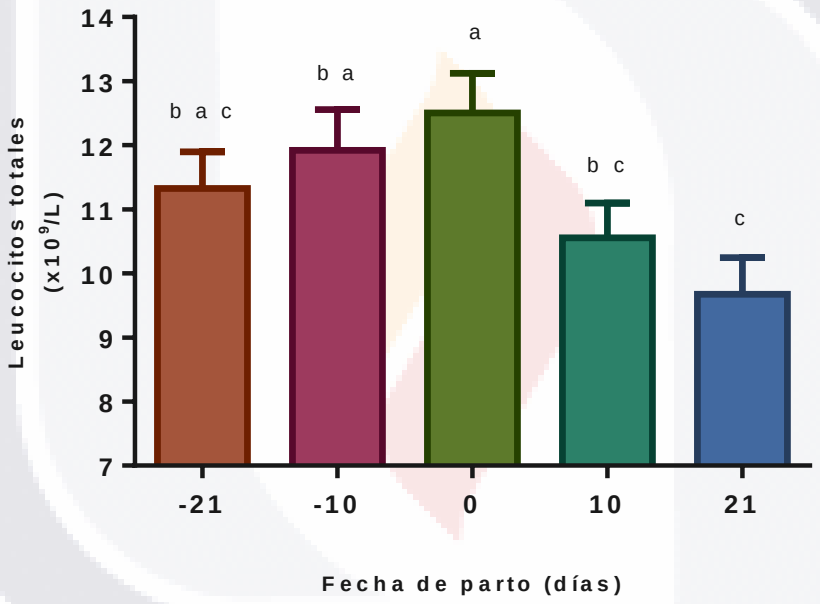

Figura 10. Cantidad leucocitos totales ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.5 Granulocitos absolutos

Los granulocitos en su recuento absoluto, no mostraron diferencia estadística significativa ($P<0.05$) hasta el día 10 después del parto, sin embargo, se mantiene alrededor del límite máximo establecido (6.0 x10^9/L) aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos, en el último muestreo si se observó diferencia estadística significativa ($P<0.05$) (Figura 11).

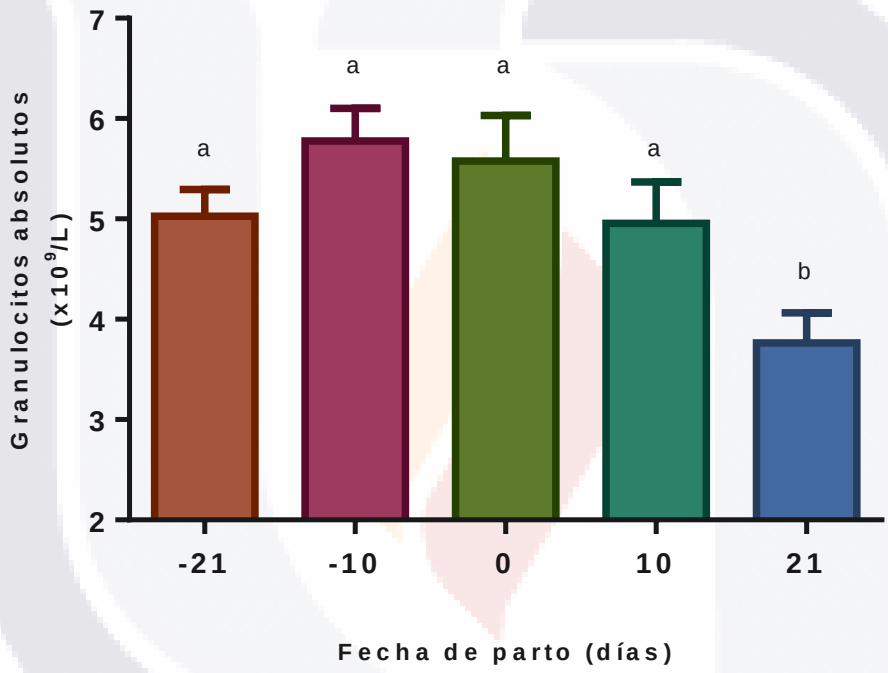

Figura 11. Cantidad granulocitos (x10^9/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.6 Porcentaje de granulocitos totales

El porcentaje de granulocitos totales incremento en el periodo de muestreo de 10 días antes del parto, encontrando diferencia estadística significativa (P<0.05) con respecto al primer muestreo, y disminuyendo nuevamente el día del parto, manteniéndose a los 10 días después de éste y bajando nuevamente en el último muestreo (Figura 12).

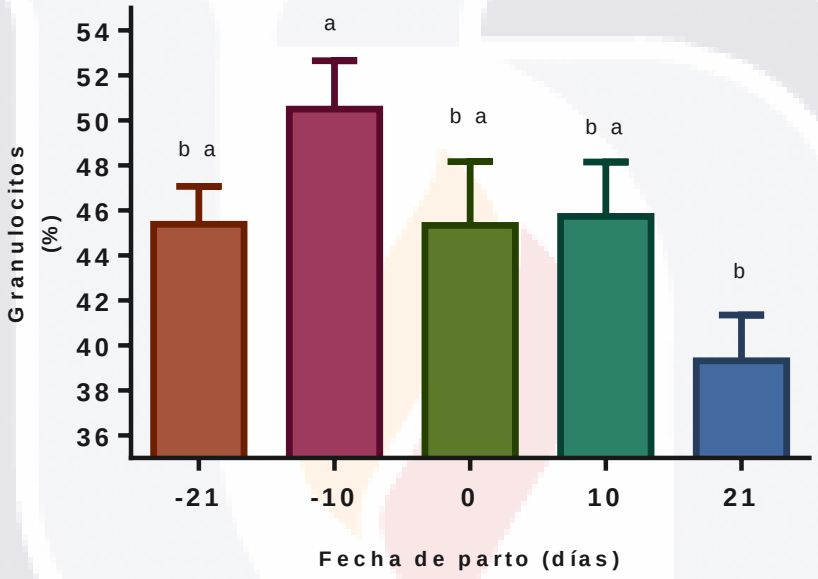

Figura 12. Porcentaje de granulocitos del total de leucocitos en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.7 Linfocitos y monocitos (agranulocitos) absolutos

La cantidad de linfocitos y monocitos (agranulocitos) encontrada, no mostro diferencia estadística significativa ($P<0.05$) con respecto a los diferentes periodos de muestreo, sin embargo, el día del parto el promedio de estas células, estuvo cerca de los límites máximos establecidos como normales (7.5 $x10^9$/L), incluso algunas vacas estuvieron por encima de este límite (Figura 13).

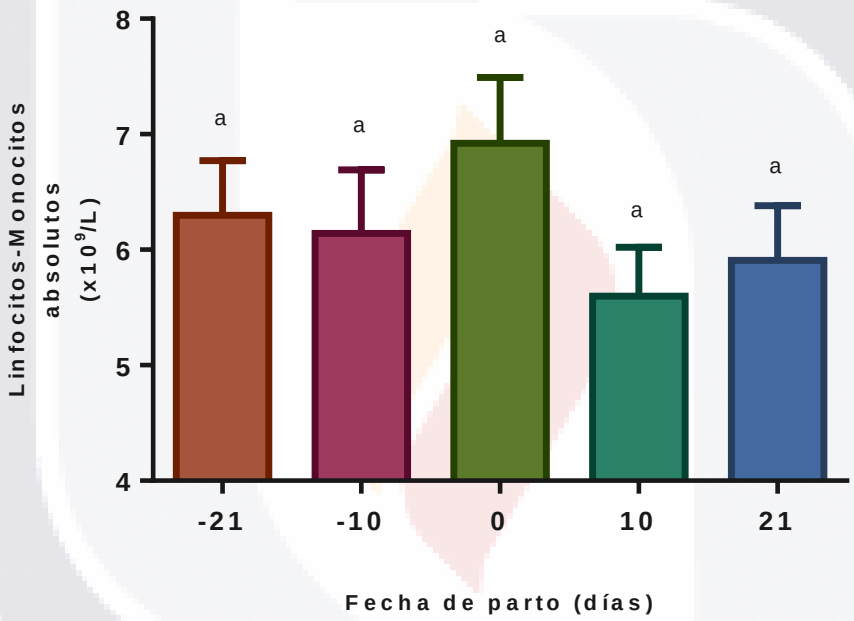

Figura 13. Cantidad linfocitos y monocitos ($x10^9$/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.8 Porcentaje de linfocitos-monocitos (agranulocitos) totales

Se observa que el porcentaje de los linfocitos y monocitos encontrado en el segundo periodo de muestreo fue el más bajo, incrementando posteriormente en el tercer muestreo que corresponde a la fecha de parto, manteniéndose similar 10 días después de este y aumentando significativamente (P<0.05) en el último muestreo (Figura 14).

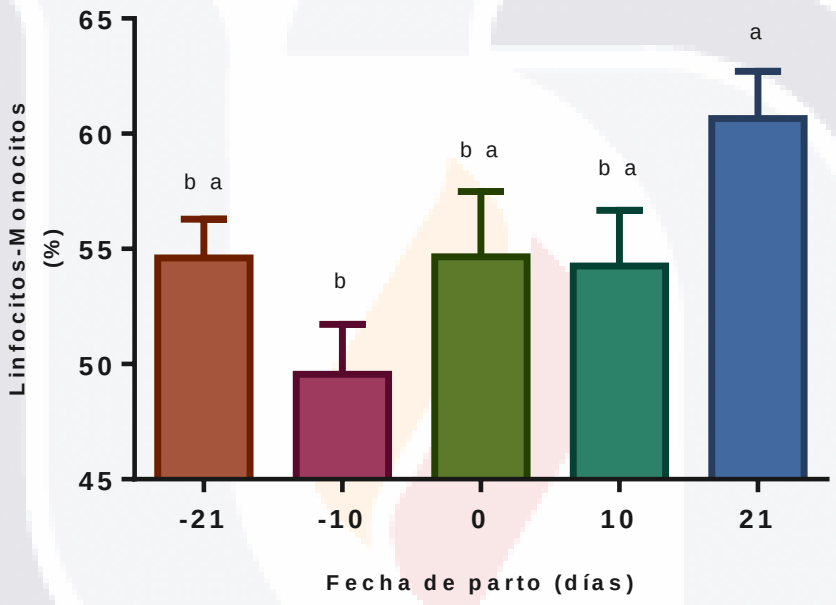

Figura 14. Porcentaje de linfocitos-monocitos (agranulocitos) del total de leucocitos en sangre, de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.1.9 Plaquetas

Los resultados obtenidos de las plaquetas en sangre, muestran que su concentración incrementa a los 10 días antes del parto, pero vuelve a bajar el día del parto, aumentando nuevamente en los muestreos posteriores, aunque se observa diferencia estadística significativa (P<0.05), los resultados están dentro de los rangos normales (Figura 15).

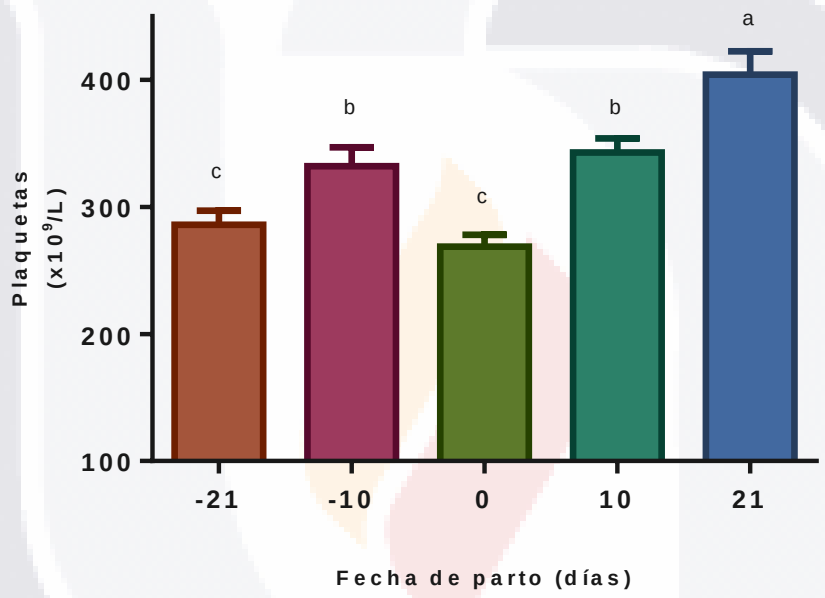

Figura 15. Cantidad plaquetas (x10⁹/L) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2 RESULTADOS DEL FROTIS SANGUÍNEO (DIFERENCIAL)

Resultados obtenidos de la lectura de los frotis sanguíneos, con la finalidad de realizar el diferencial de los diversos tipos de leucocitos en sangre, los cuales se expresan en porcentaje, ya que se observaron las laminillas a 100X y se realizó el conteo de 100 leucocitos diferenciándolos por sus características físicas observables.

5.2.1 Eosinófilos

La cantidad en porcentaje de eosinófilos mostro un decremento conforme se acerca la fecha del parto, 10 días después continúo bajando siendo este periodo donde se obtuvieron los valores más bajos (P<0.05), y aumentando un poco en el último muestreo a pesar de ser un tipo de leucocito que se encuentra en pequeña proporción (Figura 16).

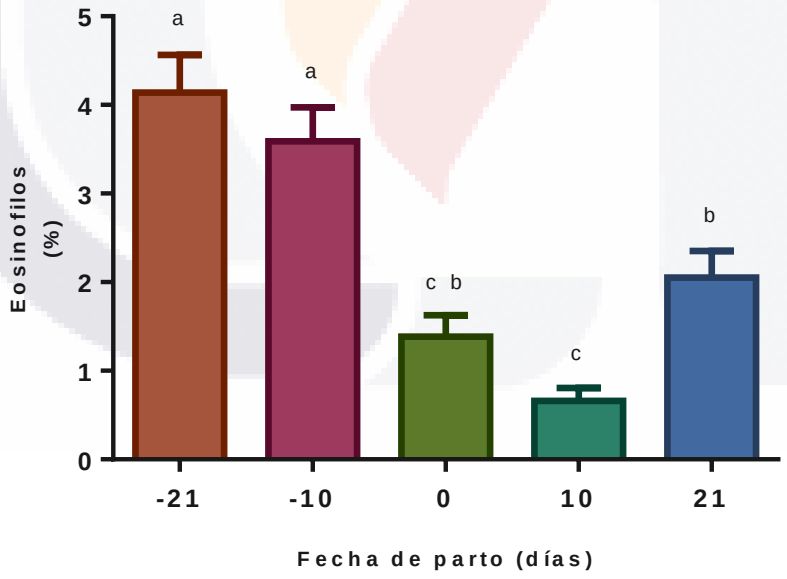

Figura 16. Cantidad eosinófilos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2.2 Neutrófilos banda

El porcentaje de neutrófilos banda o inmaduros, no presentaron diferencia estadística significativa (P<0.05), con respecto a los diferentes periodos de muestreo con relación al parto (Figura 17).

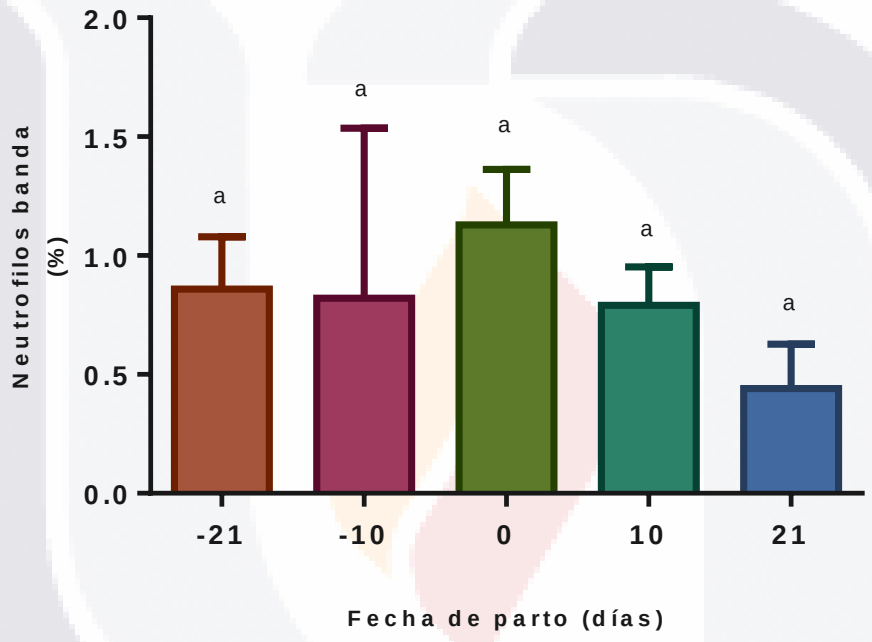

Figura 17. Cantidad neutrófilos banda (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2.3 Neutrófilos Segmentados

El porcentaje de neutrófilos segmentados incrementa significativamente (P<0.05) conforme se acerca la fecha del parto, como se puede observar en la gráfica, siendo la fecha de parto el periodo con el porcentaje más alto encontrado, posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días (Figura 18).

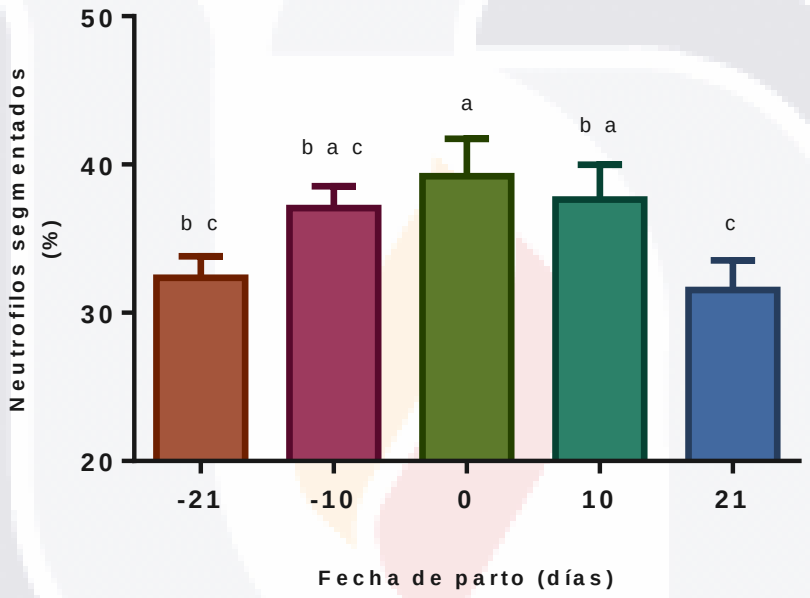

Figura 18. Cantidad neutrófilos segmentados (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2.4 Linfocitos

El porcentaje de linfocitos observado disminuye significativamente (P<0.05) conforme se acerca la fecha del parto como se puede observar en la gráfica, posterior a éste se observa un aumento conforme avanzan los días (Figura 19).

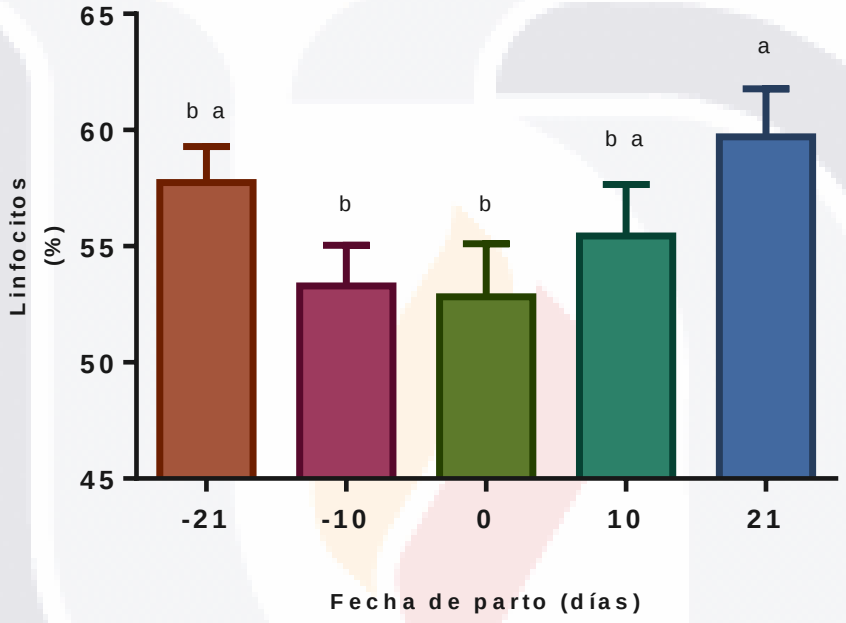

Figura 19. Cantidad linfocitos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5.2.5 Monocitos

El promedio de monocitos en porcentaje encontrados, se comportó de manera similar en los diferentes periodos de muestreo, encontrando una mayor cantidad de estas células en las muestras conforme avanzan los días del periodo de transición encontrando diferencias significativas (P<0.05) entre el primer y último muestreo (Figura 20).

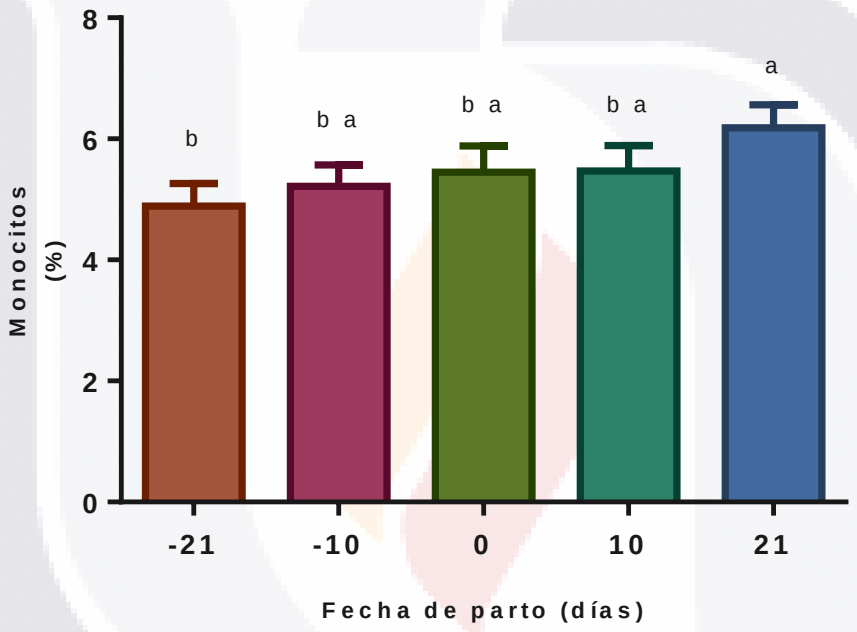

Figura 20. Cantidad monocitos (%) en sangre de vacas muestreadas a diferentes tiempos durante el período de transición. Se presentan las medias ± el error estándar. Literales diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) a la prueba de medias de Tukey.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

6. DISCUSIÓN

El presente estudio comprendió la caracterización del periodo de transición mediante el análisis de los principales analitos hematológicos. Las vacas evaluadas en este estudio se mantuvieron bajo las mismas condiciones ambientales, de manejo y de nutrición, con RTM *ad libitum* para cada etapa fisiológica. Se evaluaron 64 vacas que fueron analizadas y distribuidas en cinco grupos de evaluación e integrados de la siguiente manera: Grupo 1 integrado por 47 vacas de -21 d con respecto a la fecha esperada de parto, Grupo 2 por 62 vacas de -10 d preparto, Grupo 3 por 75 vacas al momento del parto, Grupo 4 por 62 vacas de +10 d después del parto y por el Grupo 5 que estuvo integrado por 60 vacas con +21 d después del parto.

Los cambios obtenidos del análisis hematológico (serie roja, serie blanca y plaquetas) coinciden con los obtenidos en otros estudios similares en otras partes del mundo, de acuerdo a lo descrito en otras investigaciones.

6.1 SERIE ROJA

El hematocrito es el porcentaje del volumen total de la sangre compuesto por eritrocitos, sus valores pueden verse alterados por desnutrición, por disminución en el número de glóbulos rojos, pude aumentar el valor del hematocrito en condiciones de hipoxia prolongada, en el caso de las vacas próximas al parto se pude atribuir un aumento en esta variable debió al espacio que ocupa el feto que limita la distención total de los pulmones, por lo que la vaca tiene que producir mayor cantidad de hematíes para satisfacer la demanda de oxígeno del organismo y del feto mismo (Roland et al., 2014). Lo que coincide con lo obtenido en este estudio, se observó una tendencia a incrementar el porcentaje, conforme se acerca la fecha de parto encontrando diferencia estadística ($P<0.05$) entre el primer y tercer muestreo, posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos. Los hallazgos encontrados en este estudio también coinciden con los descritos anteriormente por con (Sloss y Dufty, 1980) y (Dolhain et al., 1995), describen un aumento del HTC días próximos al parto, encontrando

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

diferencia significativa (P<0.05) con respecto a los meses anteriores analizados. De la misma manera (Díaz et al., 1999) encontraron que hubo cambios significativos del hematocrito (P<0.05), como respuesta fisiológica al crecimiento fetal, menciona que los hematíes de las vacas durante la gestación y lactancia temprana mostraron mayor peso y concentración de hemoglobina en el eritrocito al reportado en la literatura, lo que puede indicar un mecanismo especial de adaptación a la gran demanda de oxígeno.

La hemoglobina es una proteína, su función es el transporte de oxígeno a los diferentes órganos y tejidos, puede aumentar su valor en el hematocrito en condiciones de hipoxia prolongada, en el caso de las vacas próximas al parto se puede atribuir un aumento en esta variable debido al espacio que ocupa el feto que limita la distención total de los pulmones, por lo que la vaca tiene que producir mayor cantidad de hemoglobina para satisfacer la demanda de oxígeno del organismo y del feto mismo (Rocha, 2006), (Roland et al., 2014). En este estudio se encontró que la cantidad promedio de hemoglobina en sangre encontrada en los diferentes muestreos con respecto al parto, muestra un incremento conforme se acerca el día del parto, encontrando diferencia estadística (P<0.05) entre el primer y tercer muestreo, posterior al parto se observa una disminución conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos. Los hallazgos encontrados coinciden con los descritos anteriormente, de acuerdo con (Sloss y Dufty, 1980), (Dolhain et al., 1995) y (Díaz et al., 1999) describen un aumento de HB días próximos al parto encontrando diferencia significativa (P<0.05) con respecto a los meses anteriores analizados. (Jacob et al., 2001), (Reynolds et al., 2006) también describen un incremento de la concentración de hemoglobina del eritrocito en la parte final de la gestación como resultado del aumento de la demanda de oxígeno para el crecimiento fetal, el cual es máximo en el último tercio de la gestación, menciona que el volumen de eritrocitos y de plasma se expanden proporcionalmente con la gestación. En la vaca se ha calculado que al final de la preñez, la tasa metabólica fetal se duplica y los tejidos del útero y la placenta consumen de 35 a 50 % del oxígeno disponible (Reynolds, 1993). Así mismo, se aumenta 16 veces la captación fetal de oxígeno (Reynolds, 1993) y la tasa metabólica materna es mayor (Stokes y Goff, 2001). Esto implica que se aumente el número de eritrocitos y su capacidad de transporte de oxígeno con el fin de soportar el crecimiento fetal y el aumento del metabolismo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La concentración de hemoglobina corpuscular media es una forma de medición de la hemoglobina circulante, la hemoglobina se encarga de transportar oxígeno a los diferentes tejidos del cuerpo para la correcta oxigenación y llevado a cabo de los procesos fisiológicos (Jones y Allison, 2007), en este estudio los indicadores de función hemática se modificaron el día del parto con una elevación significativa ($P<0.05$) casi a los límites máximos de referencia (34.9 g/dL) el día del parto y nuevamente baja (32.8 g/dL) posterior al este, encontrando diferencia estadística con respecto a los valores de los otros periodos de muestreo lo que coincide con lo obtenido por (Wankhade et al., 2017) quien obtuvo una medición de (35.2+ 3.24 g/dl); por otro lado (Roland et al., 2014) obtuvieron valores más altos (36.2 g/dL) en el mismo periodo de muestreo de las vacas.

Como se puede observar en los resultados obtenidos, después del parto comienzan a descender los valores promedio de la serie roja, (Hematocrito y Hemoglobina) lo que coincide con (Díaz et al., 1999) mencionan que existen varios reportes acerca de la disminución de estos analitos en las primeras semanas posparto; en esta investigación se encontró que la caída del HTO y la HB se presenta sin cambios significativos en el tamaño (VCM), peso y concentración de hemoglobina (HCM, CHCM) ($P> 0.05$), evidenciando que no existe una caída real del porcentaje de HTO y HB. El cambio en la función hemática tiene que ver con la dinámica normal del balance hídrico de la vaca lechera después del parto. Es posible que la disminución del HTO y HB se deba a un incremento del consumo de agua en el posparto. Se ha demostrado que vacas de alta producción en el inicio de la lactancia, consumen 60% más agua que en la gestación (Meikle et al., 2013) y que el volumen plasmático después del parto aumenta aproximadamente 7%, por tanto, el descenso de los indicadores de función hemática puede reflejar la hemodilución asociada con aumento en la ingestión de agua y el volumen plasmático, como lo sugiere (Grummer, 1995) quien encontró disminución del HTO por aumento de dicho volumen.

6.2 SERIE BLANCA

Los glóbulos blancos o también llamados leucocitos, son células sanguíneas sin pigmento responsables de la respuesta inmune (Bautista et al., 2016), (Wankhade et al., 2017) , en este estudio se observó un incremento promedio en los leucocitos totales absolutos en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sangre (12.5 x10^9/L), conforme se aproxima el parto, siendo éste, el periodo de muestreo con un recuento más alto que los demás ($P<0.05$) y rebasando los límites normales establecidos (12.0 x10^9/L), posterior al parto se observa una disminución (9.6 x10^9/L) conforme avanzan los días, aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos. Estos resultados que se obtuvieron concuerdan con los obtenidos por (Pizoni et al., 2017) el cual obtuvo valores de (12.6 x10^9/L) en ese mismo tiempo de muestreo, (Campos et al., 2008) también obtuvo valores de (13.0 x10^9/L) en ese periodo mismo periodo, sin embargo, difieren mucho de los valores obtenidos por (Silva et al., 2016) quien obtuvo valores de (16.0 x10^9/L) en vacas sanas al momento del parto, aunque sus resultados fueron más altos, todos se encuentran por encima de los rangos de valores normales. En cuanto al muestreo posparto (Silva et al., 2016) obtuvo valores de (6.89 x10^9/L) lo que coincide también con los resultados obtenidos en el presente estudio. Algunos otros autores como (Ohtsuka et al., 2004), (Ohtsuka et al., 2013), (Kaneko et al., 1997), (Levkut et al., 2012) y (Santos et al., 2018), también mencionan que la respuesta normal de los leucocitos sanguíneos frente al aumento del cortisol que se registra durante el parto es una leucocitosis. Sin embargo, a pesar de la leucocitosis marcada, la función de éstos no es la mejor y ellos mencionan que la disfunción de los neutrófilos sanguíneos en el parto estaría determinada por una baja expresión de los antígenos de membrana (integrinas principalmente), causada por los elevados niveles de cortisol plasmático que se registran en ese momento.

Existen muchos antecedentes de esta diferente respuesta de los leucocitos sanguíneos en el momento del parto. Existen varios trabajos, ya desde la década del 80, que relacionan al calcio con la respuesta de los leucocitos. En 1989 se comprobó, in vitro, que en ausencia de calcio extracelular la capacidad fagocítica de los macrófagos disminuía un 40 % respecto de los testigos y que, neutralizando el calcio intracelular, se suprimía casi totalmente la fagocitosis de éstos. Asimismo, éstos y otros autores demostraron que la diapédesis de los neutrófilos también es dependiente del Calcio, siendo éste necesario para el pasaje de gel a sol de la actina intracitoplasmática (Villereal y Palfrey, 1989) esta información es corroborada posteriormente por (Bagur y Hajnóczky, 2017) .

Otro factor importante es la deficiencia de estrógenos durante este período, pues se induce una actividad leucítica disminuida (Sordillo, 2016) y una función de neutrófilos deteriorada según lo evaluado por la quimiotaxis hacia las preparaciones sobrenadantes de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cotiledón y la actividad de la mieloperoxidasa. La mieloperoxidasa es la proteína más abundante en los neutrófilos y es la única peroxidasa que cataliza la conversión de peróxido de hidrogeno y cloruro a acido hipocloroso, siendo así un potente oxidante que contribuye al mecanismo de defensa contra los antígenos. (Ohtsuka et al., 2013).

La disminución de las defensas de la vaca se produce normalmente a partir de las 2 a 3 semanas preparto, alcanzando el nivel mínimo 1 a 2 semanas postparto debido a que la actividad de neutrófilos y linfocitos disminuye hasta un 50% en los días cercanos al parto (LeBlanc, 2008).

Dentro de los leucocitos denominados granulocitos, se encuentran los neutrófilos segmentados, neutrófilos en banda, basófilos y eosinófilos principalmente. Los neutrófilos segmentados son la primera línea de defensa del animal (Meglia et al., 2017), éstos montan una respuesta inmune inespecífica y son los de mayor importancia pues se encuentran en un mayor número. En nuestro estudio estas células de defensa se encontraron, en su recuento absoluto que, los primeros 4 muestreos no mostraron diferencia estadística significativa ($P<0.05$), sin embargo, se mantiene alrededor del límite máximo establecido (6.0 $x10^9$/L) aunque sin salir de los rangos de normalidad establecidos, en el último muestreo de 21 días posteriores al parto, si se observó diferencia estadística significativa ($P<0.05$), con una disminución en la media de (3.6 $x10^9$/L), en cuanto a porcentaje alrededor del parto se encontró con un valor del 45.3% lo que coincide con los resultados obtenidos por (Pizoni et al., 2017) el cual obtuvo un valor absoluto promedio de (4.9 $x10^9$/L) y un porcentaje de 40, en el mismo periodo de muestreo, al igual que los datos obtenidos por (Meglia et al., 2017).

Por otro lado, el conteo en porcentaje de neutrófilos banda o inmaduros, no presentaron diferencia estadística significativa ($P<0.05$), con respecto a los diferentes periodos de muestreo con relación al parto, estos resultados coinciden con los obtenidos por (Pizoni et al., 2017) (Santos et al., 2018) y (Sandoval et al., 2010) quienes tampoco encontraron diferencia estadística ($P<0.05$) en muestreos alrededor del parto.

Los eosinófilos constituyen el principal componente de las reacciones de hipersensibilidad sistémicas. Cuando los antígenos de parásitos o alérgenos se unen a las IgE específicas de los mastocitos, estimulan la degranulación de éstos liberando histamina que atrae a los leucocitos, entre ellos los eosinófilos, también tienen la capacidad fagocítica

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

o bactericida limitada y pueden desempeñar cierto papel en la destrucción de células neoplásicas (Amella, 2006). En este estudio, la cantidad en porcentaje de eosinófilos mostró un decremento conforme se acerca la fecha del parto ($P<0.05$), 10 días después continúo bajando siendo este periodo donde se obtuvieron los valores más bajos (0.6%), y aumentó un poco en el último muestreo a pesar de ser un tipo de leucocito que se encuentra en pequeña proporción, estos datos coinciden parcialmente con los obtenidos por (Campos et al., 2008), ellos obtuvieron valores más altos en el preparto y los valores más bajos después del parto ($P<0.05$), pero de igual manera los valores no salieron de los rangos de normalidad establecidos, por otro lado los datos obtenidos, difieren con los encontrados por (Santos et al., 2018) quienes obtuvieron valores de hasta el (4.1%) en la tercera semana posterior al parto, estas diferencias pueden deberse a que el estudio se realizó en otro país (Brasil) y el manejo del ganado difiere al que se realiza en el altiplano centro de México.

Dentro de los leucocitos llamados agranulocitos por sus características morfológicas, se encuentran los monocitos y linfocitos, estos últimos de mayor importancia en la respuesta inmunológica específica (LeBlanc, 2008). En este estudio, la cantidad absoluta de linfocitos y monocitos (agranulocitos) encontrada, no mostró diferencia estadística significativa ($P<0.05$) con respecto a los diferentes periodos de muestreo, sin embargo, el día del parto el promedio de estas células, estuvo cerca de los límites máximos establecidos como normales (7.5 $x10^9$/L), incluso algunas vacas estuvieron por encima de este límite, estos datos que se obtuvieron, son similares a los obtenidos por (Găvan et al., 2010) quien obtuvo valores de (5.44 $x10^9$/L) en vacas muestreadas antes del parto y valores de (5.92 $x10^9$/L) en vacas muestreadas después del parto, en otro estudio realizado por (Campos et al., 2008), se observó un comportamiento muy parecido, donde obtuvieron valores de (6.02 $x10^9$/L), en vacas antes del parto y valores de (6.05 $x10^9$/L) en vacas después del parto, ambos, todos los resultados promedio se mantuvieron dentro de los rangos normales establecidos.

En cuanto al conteo en porcentaje de linfocitos y monocitos con relación al total de células de la serie blanca, se observa que los linfocitos y monocitos en el segundo periodo de muestreo fue el más bajo (49.5%), incrementando posteriormente en el tercer muestreo que corresponde a la fecha de parto (54%), manteniéndose similar 10 días después de este y aumentando significativamente ($P<0.05$) en el último muestreo (61%), estos resultados se deben principalmente a que las variaciones principales fueron de los neutrófilos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

segmentados, por lo que se refleja que no hay diferencia significativa en el conteo absoluto de los linfocitos y monocitos pero si en el conteo de porcentaje.

6.3 PLAQUETAS

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos responsables de la hemostasia iniciando la formación de coágulos. Son producidos en la médula ósea. La disminución en sus valores puede ocasionar fallas en el proceso de coagulación y favorecer la aparición de hemorragias. Al incrementar la síntesis de cortisol, se estimula la producción de plaquetas, para que éstas actúen en las posibles lesiones, de acuerdo con los resultados de este estudio el número de plaquetas aumentó el día del parto coincidiendo con lo obtenido por (Ohtsuka et al., 2004). En el presente estudio muestran que su concentración incrementa a los 10 días antes del parto (332 $x10^9$/L) , pero vuelve a bajar el día del parto a (268 $x10^9$/L), aumentando nuevamente en los muestreos posteriores, encontrando el punto más alto en el último muestreo 21 días después del parto (404 $x10^9$/L), aunque se observa diferencia estadística significativa ($P<0.05$), los resultados están dentro de los rangos normales, lo cual coincide con los resultados obtenidos por (Santos et al., 2018), el cual obtuvo valores de (407 $x10^9$/L) para vacas de la raza Holstein en un periodo similar de muestreo. Por otra parte, existen reportes que señalan un aumento de trombocitos durante la gestación, siendo estos resultados contradictorios a los encontrados en este trabajo (Ramírez et al., 2009).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

7. CONCLUSIONES

El período de transición es un estado de gran estrés, que modifica temporalmente los componentes hematológicos, por lo que se debe tener principal cuidado en esta etapa ya que las vacas son vulnerables a las enfermedades infecciosas en este periodo, debido a que el sistema inmunológico se encuentra comprometido.

En esta investigación se confirma la magnitud de los ajustes fisiológicos en la fase de transición y la presencia de alteración de la función sanguínea principalmente el punto crítico es después del parto.

Se pudo concluir que existen variaciones significativas de los valores hematológicos de la vaca lechera durante su periodo de transición, aunque los datos no salieron de los rangos de normalidad establecidos, éstos se acercaron a los límites, y esto las hace vulnerables a cualquier otro factor para desencadenar una enfermedad.

Aunque los valores de neutrófilos segmentados fueron más altos en el muestreo del día del parto, en comparación con los otros muestreos, sería necesaria una evaluación de su actividad fagocítica para confirmar su capacidad de actuar ante un desafío, ya es posible no observar diferencias en el porcentaje de leucocitos, monocitos, linfocitos y neutrófilos en los animales, pero sí diferencias en la actividad fagocítica de los neutrófilos.

La información presentada puede ser utilizada como referencia del comportamiento fisiológico de la vaca lechera durante la fase de transición en condiciones de altiplano centro de México.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

8. BIBLIOGRAFÍA

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science.

Amella. (2006). *Atlas de hemocitología veterinaria*. Servet.

Bagur, R., & Hajnóczky, G. (2017). Intracellular Ca2+ sensing: Role in calcium homeostasis and signaling. *Molecular cell*, *66*(6), 780–788. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.028

Baron, M. H. (2003). Embryonic origins of mammalian hematopoiesis. *Experimental Hematology*, *31*(12), 1160–1169. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2003.08.019

Bauman, D. E., Mather, I. H., Wall, R. J., & Lock, A. L. (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, *89*(4), 1235–1243. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72192-0

Bautista, C. R., Rodríguez Lozano, A., Álvarez Martínez, J. A., Rojas Martínez, C., Figueroa Millán, J. V., Díaz López, M., García Rubio, V. G., Bautista Garfias, C. R., Rodríguez Lozano, A., Álvarez Martínez, J. A., Rojas Martínez, C., Figueroa Millán, J. V., Díaz López, M., & García Rubio, V. G. (2016). Activación in vitro de monocitos de bovino con Lactobacillus casei: Producción de óxido nítrico. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, *3*(8), 237–242.

Blanco. (2013). *Sistema de Produccion Animal II*. Universidad Nacional Autonoma de Mexico.

Bodel, P., Dillard, G. M., Kaplan, S. S., & Malawista, S. E. (1972). Anti-inflammatory effects of estradiol on human blood leukocytes. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *80*(3), 373–384.

Campos, R., Lacerda, L. A., Terra, S. R., & Gonzalez, F. H. D. (2008). *Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil – Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

https://www.ufrgs.br/lacvet/publicacoes/parametros-hematologicos-e-niveis-de-cortisol-plasmatico-em-vacas-leiteiras-de-alta-producao-no-sul-do-brasil/

Carroll, J. A., & Forsberg, N. E. (2007). Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, *23*(1), 105–149. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.01.003

Comline, R. S., Hall, L. W., Lavelle, R. B., Nathanielsz, P. W., & Silver, M. (1974). Parturition in the cow: Endocrine changes in animals with chronically implanted catheters in the foetal and maternal circulations. *The Journal of Endocrinology*, *63*(3), 451–472. https://doi.org/10.1677/joe.0.0630451

Correa, C., Rodríguez, J. O., Prieto, S. E., Álvarez, L., Ospino, B., Munevar, Á. M. C., Bernal, P. Q., Mora, J. J. P., & Vitery, S. (2012). *Geometric diagnosis of erythrocyte morphophysiology*. https://www.semanticscholar.org/paper/Geometric-diagnosis-of-erythrocyte-morphophysiology-Correa-Rodr%C3%ADguez/c5a9acc099f3fc72a93cf96ae530dac7b34a9517

Díaz, H. F., Rico, M. B. A., & Gerardino, A. G. de. (1999). Efecto de la gestación, parto y lactancia en la función hemática y hepática de vacas Holstein en condiciones tropicales. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, *3*(1), 4–19. https://doi.org/10.21930/rcta.vol3_num1_art:175

Dolhain, R. J. E. M., Kuiper, P. D., Verweij, C. L., Fenders, J. M. A., Breedveld, F. C., Dijkmans, B. a. C., & Miltenburg, A. M. M. (1995). Tenidap, but not Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Inhibits T-Cell Proliferation and Cytokine Induction. *Scandinavian Journal of Immunology*, *42*(6), 686–693. https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1995.tb03712.x

Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C., & Moncoulon, R. (2001). Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, *84*(3), 583–589. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74511-0

Erb, H. N., & Grohn, Y. T. (1988). Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. *Journal of Dairy Science*, *71*(9), 2557–2571. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79845-8

Ezzat Alnakip, M., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P., & Barros-Velázquez, J. (2014). *The Immunology of Mammary Gland of Dairy Ruminants between Healthy and Inflammatory Conditions* [Review Article]. Journal of Veterinary Medicine; Hindawi. https://doi.org/10.1155/2014/659801

FAO. (2017). *FAO proyecta que producción mundial de leche crezca 1,4% en 2017 – Proleche*. http://proleche.com/2017/11/20/fao-proyecta-que-produccion-mundial-de-leche-crezca-14-en-2017/

Găvan, C., Retea, C., & Motorga, V. (2010). Changes in the Hematological Profile of Holstein Primiparous in Periparturient Period and in Early to Mid Lactation. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, *43*(2), 244–246.

Grummer, R. R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, *73*(9), 2820–2833. https://doi.org/10.2527/1995.7392820x

Hernández. (2016). *Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos Lecheros*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Herr, M., Bostedt, H., & Failing, K. (2011). IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology*, *75*(2), 377–385. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.009

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Hillerton, J. E., Cooper, J., & Morelli, J. (2007). Preventing bovine mastitis by a postmilking teat disinfectant containing acidified sodium chlorite. *Journal of Dairy Science*, *90*(3), 1201–1208. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71607-7

Hogan, D. J., Riordan, D. P., Gerber, A. P., Herschlag, D., & Brown, P. O. (2008). Diverse RNA-Binding Proteins Interact with Functionally Related Sets of RNAs, Suggesting an Extensive Regulatory System. *PLOS Biology*, *6*(10), e255. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060255

INEGI. (2019). *Economía. Ganadería*. http://www.cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/gana/default.aspx?tema=e

Jacob, S. K., Ramnath, V., Philomina, P. T., Raghunandhanan, K. V., & Kannan, A. (2001). Assessment of physiological stress in periparturient cows and neonatal calves. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, *45*(2), 233–238.

Jennings. (1998). *Texto de Cirugía de los Animales Grandes*. Salvat.

Ji, R. P., Phoon, C. K. L., Aristizábal, O., McGrath, K. E., Palis, J., & Turnbull, D. H. (2003). Onset of cardiac function during early mouse embryogenesis coincides with entry of primitive erythroblasts into the embryo proper. *Circulation Research*, *92*(2), 133–135. https://doi.org/10.1161/01.res.0000056532.18710.c0

Jones, M. L., & Allison, R. W. (2007). Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, *23*(3), 377–402, v. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.002

Kaneko, K., Kawakami, S., Miyoshi, M., Abukawa, T., Yamanaka, S., Mochizuki, M., & Yoshihara, S. (1997). Effect of retained placenta on subsequent bacteriological and cytological intrauterine environment and reproduction in holstein dairy cows. *Theriogenology*, *48*(4), 617–624. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00278-1

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Khan, S. A., Epstein, J. H., Olival, K. J., Hassan, M. M., Hossain, M. B., Rahman, K. B. M. A., Elahi, M. F., Mamun, M. A., Haider, N., Yasin, G., & Desmond, J. (2011). Hematology and serum chemistry reference values of stray dogs in Bangladesh. *Open Veterinary Journal*, *1*(1), 13–20.

Kingsley, P. D., Malik, J., Fantauzzo, K. A., & Palis, J. (2004). Yolk sac-derived primitive erythroblasts enucleate during mammalian embryogenesis. *Blood*, *104*(1), 19–25. https://doi.org/10.1182/blood-2003-12-4162

Klebanoff, S. J. (1979). Effect of estrogens on the myeloperoxidase-mediated antimicrobial system. *Infection and Immunity*, *25*(1), 153–156.

Latimer, K., Mahaffey, E., & Prasse. (2005). *Patología Clínica Veterinaria.* Multimédica.

LeBlanc, S. J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *176*(1), 102–114. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019

Levkut, M., Pistl, J., Revajová, V., Chroma, J., Levkutová, M., & Dávid, V. (2012). Comparison of immune parameters in cows with normal and prolonged involution time of uterus. *Veterinární Medicína*, *47*(No. 10-11), 277–282. https://doi.org/10.17221/5835-VETMED

Lynch, E., Earley, B., McGee, M., & Doyle, S. (2010). Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. *BMC Veterinary Research*, *6*, 39. https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-39

McGrath, K., & Palis, J. (2008). Chapter 1 Ontogeny of Erythropoiesis in the Mammalian Embryo. En *Current Topics in Developmental Biology* (Vol. 82, pp. 1–22). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0070-2153(07)00001-4

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Meehan, R. R., Barlow, D. P., Hill, R. E., Hogan, B. L., & Hastie, N. D. (1984). Pattern of serum protein gene expression in mouse visceral yolk sac and foetal liver. *The EMBO Journal*, *3*(8), 1881–1885.

Meglia, G. E., Johannisson, A., Petersson, L., & Waller, K. P. (2017). Cambios en los niveles sanguíneos de vitaminas A y E, selenio, leucocitos y expresión de moléculas de BR adhesión para migración en neutrófilos en vacas lecheras alrededor del parto. *Ciencia Veterinaria*, *2*(1), 74–82.

Meikle, A., Cavestany, D., Carriquiry, M., Adrien, M. de L., Artegoitia, V., Pereira, I., Ruprechter, G., Pessina, P., Rama, G., Fernández, A., Breijo, M., Laborde, D., Pritsch, O., Ramos, J. M., de Torres, E., Nicolini, P., Mendoza, A., Dutour, J., Fajardo, M., … Chilibroste, P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: Un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia Uruguay*, *17*(1), 141–152.

Ohtsuka, H., Fukuda, S., Kudo, K., Tomioka, M., Koiwa, M., & Kimura, K. (2013). Changes in leukocyte populations of cows with milk fever or displaced abomasum after calving. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *77*(3), 226–230.

Ohtsuka, H., Koiwa, M., Fukuda, S., Satoh, Y., Hayashi, T., Hoshi, F., Yoshino, T.-O., & Kawamura, S. (2004). Changes in peripheral leukocyte subsets in dairy cows with inflammatory diseases after calving. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *66*(8), 905–909. https://doi.org/10.1292/jvms.66.905

Oostendorp, R. A. J., Harvey, K. N., Kusadasi, N., de Bruijn, M. F. T. R., Saris, C., Ploemacher, R. E., Medvinsky, A. L., & Dzierzak, E. A. (2002). Stromal cell lines from mouse aorta-gonads-mesonephros subregions are potent supporters of hematopoietic stem cell activity. *Blood*, *99*(4), 1183–1189. https://doi.org/10.1182/blood.v99.4.1183

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J. J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J. E., Bravo-Patiño, A., & Baizabal-Aguirre, V. M. (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, *54*(4), 399–409. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.06.010

Palis, J., & Yoder, M. C. (2001). Yolk-sac hematopoiesis: The first blood cells of mouse and man. *Experimental Hematology*, *29*(8), 927–936. https://doi.org/10.1016/S0301-472X(01)00669-5

Panopoulos, A. D., & Watowich, S. S. (2008). Granulocyte colony-stimulating factor: Molecular mechanisms of action during steady state and "emergency" hematopoiesis. *Cytokine*, *42*(3), 277–288. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.03.002

Peeler, E. J., Green, M. J., Fitzpatrick, J. L., & Green, L. E. (2003). The association between quarter somatic-cell counts and clinical mastitis in three British dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *59*(3), 169–180. https://doi.org/10.1016/s0167-5877(03)00076-x

Pizoni, C., Feijó, J. O., Londero, U. S., Pereira, R. A., Corrêa, M. N., Brauner, C. C., Xavier, E. G., Pino, F. a. B. D., & Rabassa, V. R. (2017). Parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *69*(5), 1130–1138. https://doi.org/10.1590/1678-4162-9035

Posadas. (2013). *Sistema de Produccion Animal I*. Universidad Nacional Autonoma de Mexico.

Raizman, E. A., & Santos, J. E. P. (2002). The Effect of Left Displacement of Abomasum Corrected by Toggle-Pin Suture on Lactation, Reproduction, and Health of Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, *85*(5), 1157–1164. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74178-7

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Ramírez I., L. N., Torres, D., León, P. L., Azuaje, K. K., Sánchez, F., & Díaz de Ramírez, A. (2009). *Observaciones hematológicas en varios rumiantes tropicales*. http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/27092

Reagan. (1999). *Hematología veterinaria Atlas de especies domésticas comunes*.

Rebar. (2001). *A Guide to Hematology in Dogs and Cats*. Hobaken.

Reynolds, L. P., Caton, J. S., Redmer, D. A., Grazul-Bilska, A. T., Vonnahme, K. A., Borowicz, P. P., Luther, J. S., Wallace, J. M., Wu, G., & Spencer, T. E. (2006). Evidence for altered placental blood flow and vascularity in compromised pregnancies. *The Journal of Physiology*, *572*(Pt 1), 51–58. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.104430

Reynolds, M. (1993). Measurement of Bovine Plasma and Blood Volume During Pregnancy and Lactation. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1953.175.1.118

Rocha. (2006). *Alternativas de La Utilizacion Del Plasma y La Globina de La Sangre de Bovino | Sangre | Leucocito*. Scribd. https://es.scribd.com/doc/51186833/Alternativas-de-La-Utilizacion-Del-Plasma-y-La-Globina-de-La-Sangre-de-Bovino

Rodríguez, J. C., Kroeker, A. D., Ceballos-Márquez, A., Li, S., Plaizier, J. C., & Gomez, D. E. (2014). Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science*, *97*(12), 7777–7787. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8319

Roland, L., Drillich, M., & Iwersen, M. (2014). Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *26*(5), 592–598. https://doi.org/10.1177/1040638714546490

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Roth, J. A., Kaeberle, M. L., Appell, L. H., & Nachreiner, R. F. (1983). Association of increased estradiol and progesterone blood values with altered bovine polymorphonuclear leukocyte function. *American Journal of Veterinary Research*, *44*(2), 247–253.

Roth, J. A., Kaeberle, M. L., & Hsu, W. H. (1982). Effect of estradiol and progesterone on lymphocyte and neutrophil functions in steers. *Infection and Immunity*, *35*(3), 997–1002.

Salgado Hernández, E. G., Bouda, J., Ávila García, J., & Navarro Hernández, J. A. (2009). Efecto de la administración de sales de calcio y precursores de glucosa sobre calcio sérico y cuerpos cetónicos en vacas lecheras posparto. *Veterinaria México*, *40*(1), 17–26.

Sandoval, E., Barrios, M., Morales, G., Camacaro, O., & Domínguez, L. (2010). *Clasificación morfológica de la anemia en vacunos mestizos de doble propósito criados en una zona de bosque seco tropical*. *28*, 10.

Santos, K. R., Souza, F. N., Blagitz, M. G., Batista, C. F., Bertagnon, H. G., Gomes, R. C., Molinari, P. C. C., Diniz, S. A., Silva, M. X., Haddad, J. P. A., Heinemann, M. B., Libera, A. M. M. P. D., Santos, K. R., Souza, F. N., Blagitz, M. G., Batista, C. F., Bertagnon, H. G., Gomes, R. C., Molinari, P. C. C., … Libera, A. M. M. P. D. (2018). Mastitis in the transition period: Identification of potential blood markers. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *70*(4), 1120–1128. https://doi.org/10.1590/1678-4162-10069

Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N. A., Nash, D. M., & Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *176*(1), 115–121. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.031

Silva, Quiroga, & Landa. (2016). *Retención de placenta en vacas lecheras. Concentración de leucocitos circulantes y niveles plasmáticos de cortisol, calcio y magnesio durante el periparto.*

Sloss, V., & Dufty, J. H. (1980). *Handbook of bovine obstetrics.* Ed. Williams and Wilkins,.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Sordillo, L. M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity1. *Journal of Dairy Science*, *99*(6), 4967–4982. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10354

Squires. (2006). *Endocrinología Animal Aplicada*. Acribia.

Stokes, S. R., & Goff, J. P. (2001). Evaluation of Calcium Propionate and Propylene Glycol Administered into the Esophagus of Dairy Cattle at Calving11Supported in part by a gift from Kemin Industries, Inc., Des Moines, IA 50301-0070. *The Professional Animal Scientist*, *17*(2), 115–122. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31607-7

Szekeres-Barthó, J., Csernus, V., Hadnagy, J., & Pacsa, A. S. (1983). Progesterone-prostaglandin balance influences lymphocyte function in relation to pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology: AJRI: Official Journal of the American Society for the Immunology of Reproduction and the International Coordination Committee for Immunology of Reproduction*, *4*(3), 139–141. https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1983.tb00268.x

Szekeres-Bartho, J., Hadnagy, J., & Pacsa, A. S. (1985). The suppressive effect of progesterone on lymphocyte cytotoxicity: Unique progesterone sensitivity of pregnancy lymphocytes. *Journal of Reproductive Immunology*, *7*(2), 121–128. https://doi.org/10.1016/0165-0378(85)90066-x

Taponen, S., Simojoki, H., Haveri, M., Larsen, H. D., & Pyörälä, S. (2006). Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology*, *115*(1–3), 199–207. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.02.001

Telen, M. J. (2000). Red blood cell surface adhesion molecules: Their possible roles in normal human physiology and disease. *Seminars in Hematology*, *37*(2), 130–142. https://doi.org/10.1016/s0037-1963(00)90038-6

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Thorup, V. M., Chagunda, M. G. G., Fischer, A., Weisbjerg, M. R., & Friggens, N. C. (2018). Robustness and sensitivity of a blueprint for on-farm estimation of dairy cow energy balance. *Journal of Dairy Science*, *101*(7), 6002–6018. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14290

Tizard. (2009). *Introducción a la inmunología veterinaria* (8va ed.). Elsevier.

Torres, E. de. (2010). *Estudio de la evolución del recuento celular y el aislamiento bacteriano durante la lactancia en vacas lecheras*. https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy:8080/xmlui/handle/123456789/2690

Tsuji-Takayama, K., Otani, T., Inoue, T., Nakamura, S., Motoda, R., Kibata, M., & Orita, K. (2006). Erythropoietin induces sustained phosphorylation of STAT5 in primitive but not definitive erythrocytes generated from mouse embryonic stem cells. *Experimental Hematology*, *34*(10), 1323–1332. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2006.06.004

Van Saun, R. J. (2016). Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierarztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, *44*(2), 118–126; quiz 127. https://doi.org/10.15653/TPG-150947

Vangroenweghe, F., Lamote, I., & Burvenich, C. (2005). Physiology of the periparturient period and its relation to severity of clinical mastitis. *Domestic Animal Endocrinology*, *29*(2), 283–293. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.016

Villereal, M. L., & Palfrey, H. C. (1989). Intracellular calcium and cell function. *Annual Review of Nutrition*, *9*, 347–376. https://doi.org/10.1146/annurev.nu.09.070189.002023

Voigt, G. L. (2003). *Conceptos y tecnicas hematologicas para tecnicos veterinarios*. ACRIBIA S.A.

Waldron, M. R. (2013). *Enhancing Immunity and Disease Resistance of Dairy Cows through Nutrition*. 10.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Wankhade, P. R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K. P., Sejian, V., Rajendran, D., & Varghese, M. R. (2017). Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Veterinary World*, *10*(11), 1367–1377. https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1367-1377

Weiss, D. J., Wardrop, & Schalm. (2010). *Schalm's veterinary hematology.* (6a ed.). Wiley-Blackwell.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

9. ANEXOS

Anexo 1 Metodología para la obtención de la muestra de sangre de le vena coccígea media de las vacas:

Paso 1: Levantar la cola del animal, localizar el área de punción y hacer la asepsia correspondiente.

Paso 2: Montar la aguja de Vacutainer en el soporte o capuchón, descubrir la aguja y pinchar la vena.

Paso 3: Insertar el tubo de recogida de muestra de citrato de sodio en el porta agujas, y presione firmemente el tubo contra la aguja interior. Dejar que se llene con la muestra, la totalidad del tubo. (hasta la etiqueta superior del tubo.)

Paso 4: Retire el tubo de recogida de muestra del porta agujas con suavidad, ponga el tubo boca abajo al menos 10 veces para que se mezcle la muestra con el anticoagulante.

Anexo 2 Metodología para el procesamiento de la muestra de sangre:

1. Colocar el vial de muestra, con la tapa, en el porta tubos. Manteniendo vertical la botella de aditivo IDEXX para muestras bovinas, añada una gota (40 µL) de dicha solución al vial de muestra. IMPORTANTE: la botella debe sostenerse vertical y centrada para evitar que la gota no se deslice por la pared del vial de muestra.

2. Mezcle la muestra en el tubo de recogida de citrato de sodio poniéndola boca abajo suavemente 10 veces.

3. Retire la tapa del tubo de recogida de muestra de citrato de sodio y coloque el tubo en el organizador de preparación de muestras.

4. Con la pipeta en posición vertical, presione la perilla y bájela hasta la muestra, suavemente deje de hacer presión sobre la perilla, para que la muestra se introduzca en la pipeta, retire la pipeta y límpiela con una toallita.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

5. Con la pipeta en vertical, presione la perilla con cuidado para dispensar cuatro gotas (200 µL) de muestra en el frasco de muestreo. La pipeta debe estar centrada sobre el tubo y no debe tocar los bordes del frasco. Después, deseche la pipeta de transferencia. IMPORTANTE: La pipeta debe mantenerse en vertical en todo momento y centrada para que las gotas no deslicen por la pared del frasco de muestreo.

6. Retire el frasco de muestreo del organizador, vuelva a colocar la tapa, y muévala horizontalmente 10 veces. IMPORTANTE: no invierta el frasco para realizar la mezcla. Inmediatamente siga las indicaciones del paso 7

7. Con la cánula hacia usted abra el porta pipetas, girando el cilindro en dirección contraria a las agujas del reloj. A continuación, inserte el extremo con líneas verdes en el cilindro hasta el tope. Asegúrese el tubo en su sitio girando el cilindro en la dirección de las agujas del reloj.

8. Presione el embolo de la pipeta y manténgalo así. Inserte el extremo del tubo cubierto de naranja de acridina en la muestra diluida del paso 5, y libere el embolo poco a poco. Compruebe que la sangre llega hasta la línea negra de 111 uL.

9. Levante el porta pipetas y con cuidado, limpie la superficie exterior del tubo con una toallita sin pelusa e introduzca el extremo del tubo en la tapa de la bandeja. Asegure el tubo girando el portapitpetas media vuelta. A continuación, levante el porta pipetas y compruebe que ha sellado correctamente. Si la muestra se filtra por el tapón, repita el procedimiento con un tubo nuevo.

10. Mantenga el porta pipetas en horizontal y desbloquéelo girando el cilindro en sentido contrario de las manecillas del reloj. Con suavidad retire el tubo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

11. Mantenga el tubo en horizontal y gírelo entre sus dedos al menos durante 30 segundos para asegurar que los reactivos se mezclen bien con la muestra.

12. Para introducir el flotador, sostenga el tubo en horizontal y deslícelo sobre el extremo del flotador. Con el tubo cerca de las líneas verdes, levántelo para sacar el flotador de la ranura. Por último, apoye el extremo del tubo en la parte posterior de la bandeja.

13. Utilice la centrifugadora IDEXX VetCentrifuge. Centrifugue el tubo durante 10 minutos (dos ciclos). Asegúrese de equilibrar la centrifugadora con otro tubo. Es necesario esperar tres minutos entre cada ciclo para que se enfríe el rotor.

14. Retire el tubo rápidamente y compruebe que no tenga restos de sangre ni huellas dactilares. Compruebe que el nivel del plasma se encuentra entre las dos líneas verdes del tubo. Si se encuentra por encima o por debajo descarte el tubo y prepare uno nuevo.

15. Seleccione como especie Bovino en el analizador hematológico VetAutoread de IDEXX, a continuación, introduzca el tubo en el analizador y cierre la cubierta.

16. Imprima u obtenga los resultados obtenidos.

Anexo 3 Técnica para evaluación del frotis sanguíneo.

Se deben notar tres diferentes densidades en el extendido:

1) Zona muy densa, no sirve para evaluar los leucocitos, eritrocitos o plaquetas, pues se encuentran demasiado encimados o contraídos y no permite su diferenciación.

2) Zona ideal para la evaluación del extendido, las células se encuentran bien extendidas sin deformaciones, como en la zona 3.

3) Zona muy delgada, se emplea para la búsqueda de microorganismos en eritrocitos que hayan perdido su hemoglobina, se verifica que no hayan agregados de plaquetas, microfilarias o grandes células.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Antes de iniciar el diferencial, en un frotis teñido con Wright, se debe hacer un reconocimiento panorámico (40 X, esto es, el objetivo de 4X y ocular de 10X) del frotis (para detectar microfilarias o agregados de plaquetas), ver la distribución y seleccionar el campo para iniciar el diferencial de 100 leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos), observar a 1 000 X y aceite de inmersión. Empezar desde la parte intermedia (2) hacia la parte más gruesa (1). La dirección en zigzag que debe llevar la evaluación está relacionada con la repartición de las células en el extendido, ya que ésta no es equilibrada. Los eritrocitos pequeños y los linfocitos se van a ubicar en el centro del extendido, mientras que sobre los bordes se van a encontrar grandes eritrocitos, granulocitos y algunos linfocitos, y sobre el borde final del frotis (3) se van a encontrar los elementos de mayor tamaño (monocitos, agregados de plaquetas, microfilarias, etc.)

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS